



Bachelorthesis
zum Erlangen des akademischen Grades
Bachelor of Science Augenoptik

Vergleich zwischen
Muster-Elektroretinogramm und
multifokalem Elektroretinogramm
bei Patienten mit Retinitis
Pigmentosa

eingereicht von:
Kristina Gorte
Studiengang Augenoptik/Augenoptik und Hörakustik
Hochschule Aalen-Technik und Wirtschaft
Matr.-Nr.: 26884

Aalen, den 25. Oktober 2011

Betreuer: PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen
Prof. Dr. Ulrike Paffrath

SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Bachelorthesis mit dem Thema

**„Vergleich zwischen Muster-Elektroretinogramm und multifokalem
Elektroretinogramm bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa“**

selbstständig durchgeführt und verfasst habe. Quellen, Literatur und Hilfsmittel, die von mir verwendet wurden, sind als solche gekennzeichnet.

Crailsheim, den 25. Oktober 2011

Kristina Gorte

Gewidmet:

Herrn Prof. Dr. rer.nat. Hans-Kunibert Krause

Sie bleiben uns immer in guter Erinnerung.

ABSTRACT

Die Bachelorthesis „Vergleich zwischen Muster-Elektroretinogramm und multifokalem Elektroretinogramm bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa“ untersucht, welches elektrophysiologische Verfahren besser für die Verlaufskontrolle bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa (RP) geeignet ist. Dafür wird ein direkter Vergleich zwischen dem multifokalen Elektroretinogramm (mfERG) und dem Muster-Elektroretinogramm (PERG) vorgenommen. Darüber hinaus wird die Korrelation zwischen diesen Untersuchungsmethoden bei Normalpersonen geprüft. Die Eignung des mfERGs und des PERGs zur Dokumentation der Krankheitsentwicklung wird in dieser Arbeit unter dem aktuellen Stand der Forschung beleuchtet.

In der Studie wurden 9 Normalprobanden und 14 RP-Patienten mit den zu vergleichenden Methoden untersucht. Bei den Patienten wurden zusätzlich weitere Untersuchungen herangezogen, wie die Ableitung eines Ganzfeld-Elektroretinogramms (Ganzfeld-ERG) zur Sicherung der Diagnose, die Gesichtsfeldmessung mit dem Goldmann-Perimeter und die Fundusautofluoreszenz (FAF) mit dem Heidelberg Retina Angiograph. Beim multifokalen ERG wurde ein Reizmuster mit 61 Sechsecken verwendet. Die Ableitung des transienten und des steady-state Muster-ERGs erfolgte mit den Karogrößen $0,8^\circ$ und 18° . Bei allen elektrophysiologischen Ableitungen wurden die Empfehlungen der International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) beachtet und DTL-Fadenelektroden genutzt. Für die statistische Auswertung kamen die Korrelations- und Regressionsanalyse sowie der McNemar-Test zum Einsatz.

Die Korrelationsanalyse zwischen dem Muster-ERG und dem multifokalen ERG bei den Normalprobanden untersuchte, ob ein linearer Zusammenhang der beiden Verfahren besteht. Die Analyse lieferte lediglich eine mittlere Korrelation ($r = 0,65$ und $r = 0,62$), die jedoch nicht signifikant belegt wurde ($p = 0,056$ und $p = 0,077$). Da bei der Mehrheit der Patienten die Erkrankung schon zu weit fortgeschritten war, konnte nur bei einigen Probanden eine signifikante Antwort mit den elektrophysiologischen Methoden registriert werden. Nur bei 8 von 28 Augen der Patienten war eine signifikante Ableitung mit dem PERG möglich. Beim mfERG waren es 5 von 28 Augen. Das Ganzfeld-ERG konnte nur bei einem Patienten registriert werden. Die Mehrheit der Patienten wies ein zentrales Restgesichtsfeld von unter 30° auf. Die FAF zeigte nur bei 4 Patienten noch erhaltene Bereiche. Der McNemar-Test konnte keinen Aufschluss darüber geben, welches Verfahren besser misst.

Wie auch schon in anderen Studien bestätigt, sind das multifokale ERG und das Muster-ERG für die Anwendung bei der Dokumentation des Krankheitsverlaufs geeignet. Um endgültig herauszufinden, welches Verfahren bessere Resultate liefert bei Patienten mit Retinitis Pig-

mentosa, sollten entsprechende Ausschlusskriterien gewählt werden und nach besseren Möglichkeiten für die Patientenrekrutierung gesucht werden. Dadurch kann eine zu geringe Anzahl an Patienten, bei denen noch Antworten ableitbar sind, vermieden werden. Der kombinierte Einsatz der beiden elektrophysiologischen Verfahren bietet bisher eine gute Lösung.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	2
2.1	Das visuelle System	2
2.1.1	Aufbau und Funktion der Netzhaut	3
2.1.2	Vom Licht zur elektrischen Erregung	6
2.2	Methoden der Elektrophysiologie	6
2.2.1	Das Ganzfeld-Elektroretinogramm (ERG)	7
2.2.2	Das multifokale Elektroretinogramm (mfERG)	10
2.2.3	Das Muster-Elektroretinogramm (PERG)	14
2.3	Perimetrie	16
2.3.1	Kinetische Perimetrie	17
2.3.2	Statische Perimetrie	20
2.4	Fundusautofluoreszenz (FAF)	20
2.5	Retinitis Pigmentosa	23
2.5.1	Ganzfeld-Elektroretinogramm bei Retinitis Pigmentosa	25
2.5.2	Multifokales ERG bei Retinitis Pigmentosa	25
2.5.3	Muster-ERG bei Retinitis Pigmentosa	26
2.5.4	Gesichtsfeld bei Retinitis Pigmentosa	26
2.5.5	Fundusautofluoreszenz bei Retinitis Pigmentosa	27
2.6	Themenverbundene Studienergebnisse	28
3	Material und Methoden	30
3.1	Versuchsaufbau	30
3.1.1	Elektrodenposition	30
3.1.2	Aufklärung und Anleitung der Versuchspersonen	32
3.2	Datenaufnahme	34
3.2.1	Ganzfeld-ERG	34

3.2.2	Multifokales ERG	35
3.2.3	Muster-ERG	36
3.3	Die Reizparameter	37
3.3.1	Ganzfeld-ERG	37
3.3.2	Multifokales ERG	38
3.3.3	Muster-ERG	38
3.4	Versuchsablauf	39
3.4.1	Muster-ERG	39
3.4.2	Multifokales ERG	40
3.4.3	Ganzfeld-ERG	40
3.5	Perimetrie	41
3.5.1	Versuchsaufbau/-anordnung	41
3.5.2	Versuchsablauf/Datenaufnahme	41
3.6	Autofluoreszenz	42
3.6.1	Versuchsaufbau/-anordnung	42
3.6.2	Versuchsablauf/Datenaufnahme	42
3.7	Vorversuch	43
3.8	Hauptexperiment	45
3.9	Datenanalyse	46
3.9.1	Auswertung	46
3.9.2	Statistik	49
4	Ergebnisse	52
4.1	Darstellung der Ergebnisse des Hauptexperiments	52
4.1.1	Ergebnisdarstellung einer Versuchsperson	52
4.1.2	Überblick der Ergebnisse aller Versuchspersonen	54
4.2	Statistik	58
4.2.1	Vorversuch	58
4.2.2	Hauptexperiment	61
5	Diskussion	63
5.1	Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Normalprobanden	63
5.2	Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Retinitis Pigmentosa Patienten	66
5.3	Schlussfolgerung	69

6 Zusammenfassung	71
Abbildungsverzeichnis	74
Tabellenverzeichnis	75
Literaturverzeichnis	76
Anhang	81

1 Einleitung

Die Elektrophysiologie hat in den letzten Jahrzehnten in der Diagnosestellung deutlich an Wert gewonnen. Mehrere der elektrophysiologischen Verfahren haben sich dabei im klinischen Einsatz fest etabliert (Bach & Kellner, 2003). Die Elektrophysiologie spielt bisher bei Retinitis Pigmentosa (RP), einer hereditären degenerativen Netzhauterkrankung, nur in der Erstdiagnostik eine große Rolle. Für die Sicherung der Diagnose wird hauptsächlich das Ganzfeld-Elektroretinogramm (Ganzfeld-ERG) verwendet. Bei diesem Verfahren entstehen auf kurze Lichtreize Spannungsänderungen in der Netzhaut. Die entstandene elektrische Antwort wird mittels Elektroden aufgezeichnet. Da es aber schon in einem relativ frühen Stadium sein kann, dass kein signifikantes ERG mehr ableitbar ist, ist diese Methode für die Verlaufskontrolle bei Retinitis Pigmentosa nicht geeignet.

Eine objektive Untersuchungsmöglichkeit für den Verlauf dieser Krankheit ist im Bezug auf anstehende Therapiemöglichkeiten von klinischer Bedeutung. Eine Lösung bieten aber das multifokale Elektroretinogramm (mfERG) und das Muster-Elektroretinogramm (PERG). Das multifokale ERG misst im Gegensatz zum Ganzfeld-ERG nicht die Summenantwort der ganzen Netzhaut, sondern simultan mehrere Netzhautantworten an verschiedenen Stellen. Das Muster-ERG ist eine durch Kontrast generierte Netzhautantwort, welche die Aktivität der zentralen Netzhaut wiedergibt. Obwohl das Ganzfeld-ERG bei RP bereits relativ früh „erloschen“ ist, können das mfERG und das PERG eine Restaktivität im Zentrum noch nachweisen. Es gibt einige Studien, welche sich mit der Verlaufskontrolle bei RP-Patienten beschäftigt und die Eignung der beiden Verfahren dafür getestet haben. Allerdings liegen bisher keine Daten vor, in denen das PERG und das mfERG bei Betroffenen mit Retinitis Pigmentosa miteinander verglichen wurden.

Ziel dieser Arbeit ist der direkte Vergleich dieser elektrophysiologischen Methoden bei RP-Patienten, um eine geeignete Methode für die Dokumentation des Krankheitsverlaufs zu finden. Außerdem soll vor der zentralen Aufgabe dieser Arbeit an gesunden Probanden überprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen dem mfERG und dem PERG besteht. In dieser Arbeit werden zusätzlich zu den elektrophysiologischen Messungen auch Daten über das restliche Gesichtsfeld sowie erhaltene Bereiche in der Fundusautofluoreszenz erhoben.

2 Grundlagen

2.1 Das visuelle System

Das Sehsystem ist ein Bestandteil des Nervensystems, der sich der Weiterverarbeitung von Sehinformationen widmet. Das visuelle System beinhaltet das Auge mit Netzhaut (Retina), den Sehnerv (Nervus Opticus), Bereiche des Thalamus und des Hirnstamms ebenso wie die Sehrinde (visueller Cortex) (Rüdiger, 1982).

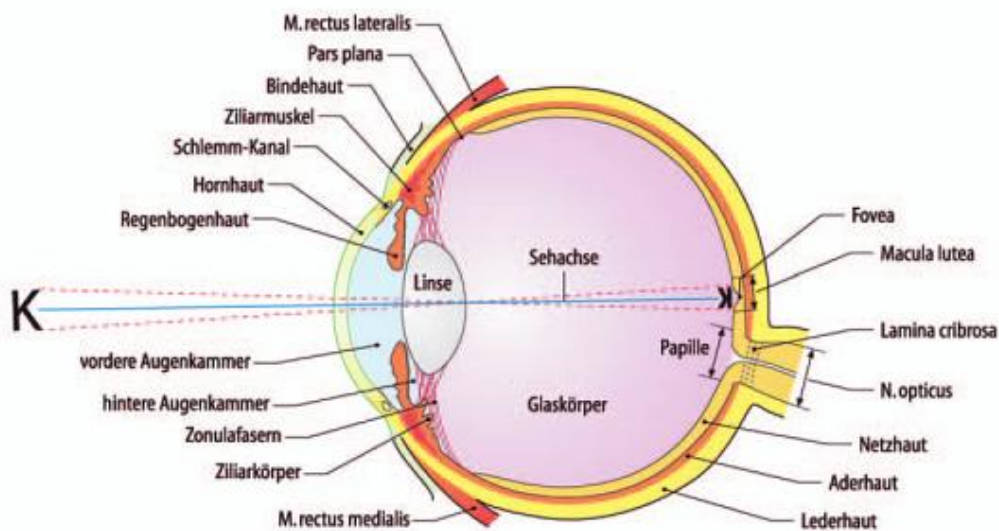


Abbildung 2.1: **Das Auge:** Horizontaler schematischer Schnitt durch das menschliche Auge. Darstellung des anatomischen Aufbaus des rechten Augapfels von oben betrachtet. Dieses Bild veranschaulicht den Weg des Lichts durch das Auge (Grehn, 2008).

Wie man in Abbildung 2.1 erkennen kann, durchläuft das einfallende Licht folgenden Weg in dem Augapfel. Es durchquert zunächst einmal die durchsichtige Schicht des Auges, die Hornhaut (Cornea) und verläuft anschließend durch die vordere Augenkammer. Sobald das Licht seinen Weg durch die Linse genommen hat, breitet es sich im Glaskörper aus und erreicht im Anschluss die Netzhaut.

2.1.1 Aufbau und Funktion der Netzhaut

Die Netzhaut, oder auch Retina genannt, ist entwicklungsgeschichtlich ein vorgeschobener Teil des Zwischenhirns (Berke, 1999). Auch wenn die Netzhaut relativ früh in der Entwicklung vom Gehirn abgespalten wird, ist sie durch den Sehnerv weiterhin mit ihm verbunden (Hubel, 1989). Die Netzhaut grenzt an den Glaskörper und die Aderhaut. Man kann sie in den lichtunempfindlichen und den lichtempfindlichen Teil gliedern. Zu dem lichtempfindlichen Teil zählen 9 verschiedene Schichten (Lang, 2004). Dieses überaus komplizierte Gewebe besteht aus Sinneszellen und Neuronen, die miteinander verschaltet sind. Das einfallende Licht wird von den Photorezeptoren aufgenommen und in elektrische Reize umgewandelt. Die Sehinformation wird anschließend zum visuellen Cortex weitergeleitet (Berke, 1999). Die Netzhaut enthält drei verschiedene Neuronen, die hintereinander geschaltet sind. Zu diesen zählen die Rezeptoren (1. Neuron), die Bipolarzellen (2. Neuron) und die Ganglienzellen (3. Neuron). Zusätzlich gibt es Interneurone wie die Horizontalzellen und die Amakrinzellen, welche die Informationen auf horizontalem Wege verarbeiten (Grehn, 2008).

Aufgrund der entgegengesetzten Lage der Photorezeptoren zum Lichteinfall muss das eintreffende Licht alle Schichten durchdringen, bis es auf die lichtempfindliche Rezeptorenschicht, das Sinnesepithel, trifft (s. Abbildung 2.2). Bei den Photorezeptoren unterscheidet man Stäbchen und Zapfen. Diese sind in der Netzhaut unterschiedlich verteilt. In der Netzhautperipherie sind Stäbchen und Zapfen und in der Fovea centralis ausschließlich Zapfen vorhanden. Die Anzahl der Stäbchen liegt bei ca. 110-125 Millionen. Sie sind für das mesopische und skotopische Sehen verantwortlich, wodurch es uns möglich ist, auch bei Dämmerung und bei Nacht etwas wahrzunehmen. Im Gegensatz zu den Zapfen weisen die Stäbchen eine 500-mal höhere Lichtempfindlichkeit auf und besitzen das Photopigment Rhodopsin. Von den Zapfen sind auf der Netzhaut ca. 6-7 Millionen vorhanden, wobei ihre Dichte zum Netzhautzentrum zunimmt. Sie sind wichtig für das photopische Sehen (Tagessehen) und mit ihrer Hilfe ist man in der Lage, Farben zu unterscheiden sowie kleinste Einzelheiten aufzulösen. Man unterteilt die Zapfen in Blau-, Grün-, und Rotzapfen (Lang, 2004). Aus den Zellkernen der Stäbchen und Zapfen wird die äußere Körnerschicht gebildet.

Das retinale Pigmentepithel (RPE) liegt in Richtung Aderhaut und hat die Funktion, das

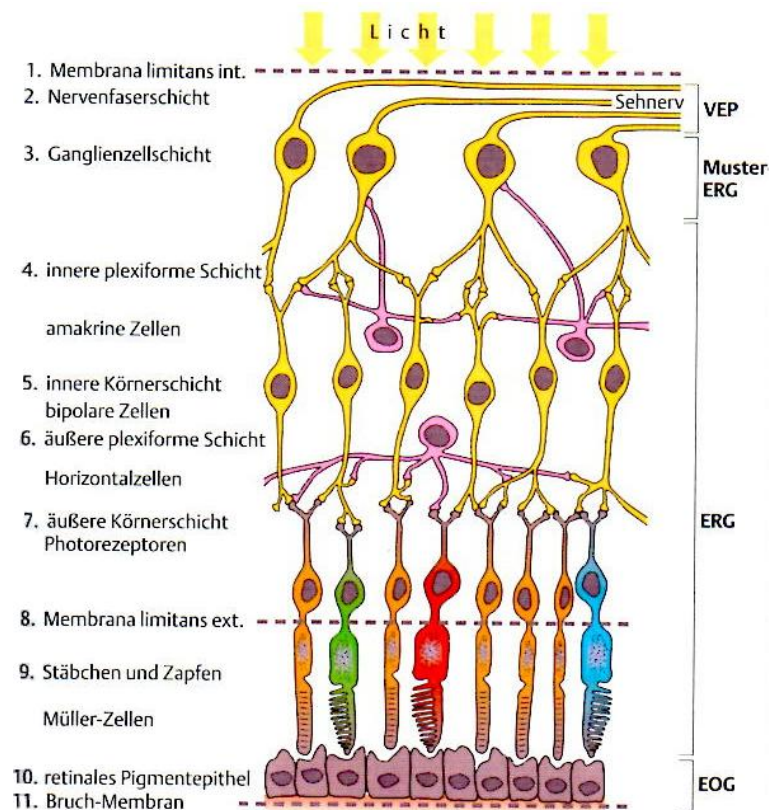


Abbildung 2.2: **Schichten der Netzhaut:** Die einzelnen Schichten der Retina sind von innen nach außen, entsprechend des Lichteinfalls dargestellt. Außerdem ist veranschaulicht, mit welcher elektrophysiologischen Methode die Funktion der entsprechenden Schicht gemessen wird (Lang, 2004).

auf die Netzhaut auftreffende Licht nach hinten abzugrenzen. Zudem verwertet das Pigmentepithel die abgeschiedenen Scheibchen (Disks) der Photorezeptoren und ist für deren Versorgung zuständig. Die innere Körnerschicht wird aus den Zellkernen der Bipolarzellen, der Horizontalzellen und der Amakrinzellen gebildet. Die Bipolarzellen dienen der Weiterleitung von Signalen der Rezeptoren an die Ganglienzellen. Die Signale werden von den Rezeptoren mit Hilfe von ihren Fortsätzen empfangen. Die Axone aller Ganglienzellen sind ab der Papille zum Sehnerv gebündelt (Grehn, 2008). Die Papille ist die Stelle, an welcher der Sehnerv durch die Ader- und Lederhaut verläuft. Neben Nervenfasern dringen auch Blutgefäße durch die Papille. Die Blutgefäße versorgen die Netzhaut mit Nährstoffen. Die Papille besitzt keine Photorezeptoren, was sich im Gesichtsfeld als Blinder Fleck bemerkbar macht (Fels, 1967). In der Netzhautmitte befindet sich die Makula lutea (Gelber Fleck). Im zentralen Bereich liegt die Netzhautgrube, die als Fovea centralis retinae bezeichnet wird und völlig frei von Gefäßen und Stäbchen ist. Des Weiteren weist diese Stelle eine sehr hohe Dichte an Zapfen

auf. Die Zapfen werden einzeln innerviert, weshalb in diesem Bereich die höchste Sehschärfe erreicht werden kann (Lang, 2004).

Morphologie der Photorezeptoren

Die Photorezeptoren sind in Außen- und Innensegmente eingeteilt.

Das Innere der Außensegmente ist stapelweise mit flachen Lamellen oder Membranscheiben versehen. Jedem Rezeptortyp stehen spezielle Photopigmente zur Verfügung, die in der Membran der Membranscheibchen liegen. Mit Hilfe der Photopigmente kommt es zur Absorption des einfallenden Lichts. Die Stäbchen enthalten das Photopigment Rhodopsin. In den Außensegmenten findet die Phototransduktion statt, wobei ein elektrochemisches Signal ausgelöst wird.

Das Innensegment ist essentiell für den Stoffwechsel der Photorezeptoren, da hier sehr viele Mitochondrien vorhanden sind. Darüber hinaus sind an dieser Stelle der Zellkern sowie weitere wichtige Zellorganellen der Rezeptorzellen enthalten.

Die Verbindung der beiden Segmente erfolgt durch einen zytoplasmatischen Steg, das Ciliurn. An der Basis des Innensegmentes befindet sich die Synapse, welche die Kontaktstelle zwischen Photorezeptor und Bipolarzelle oder Horizontalzelle darstellt (Berke, 1999). Der Aufbau der Photorezeptoren ist in Abbildung 2.3 veranschaulicht.

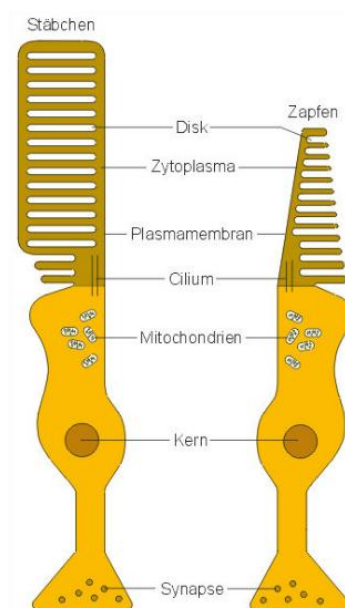


Abbildung 2.3: **Schematische Darstellung der Photorezeptoren:** Links sind die Stäbchen und rechts die Zapfen zu sehen. Die Außensegmente der Photorezeptoren sind dunkel und die Innensegmente in einem hellen Gelb abgebildet (Campbell, 1999).

2.1.2 Vom Licht zur elektrischen Erregung

Als Licht wird elektromagnetische Strahlung im sichtbaren Bereich der Wellenlänge zwischen 380 nm und 780 nm bezeichnet.

Das Licht muss alle Schichten der Netzhaut durchqueren, um an die lichtempfindlichen Stäbchen und Zapfen zu gelangen. Erreicht das einfallende Licht die Retina, so absorbieren die Außensegmente der Photorezeptoren mit ihren Photopigmenten diese Strahlung. Nun wird diese Sehinformation in mehreren Prozessschritten mittels photochemischer Reaktionen in elektrische Erregung umgewandelt.

Diese Signale gelangen an die Photorezeptorsynapsen. Von dort aus findet eine Weiterleitung auf das 2. Neuron statt. Entlang der Sehbahn wird die elektrische Erregung auf das 3. und 4. Neuron übergeleitet, bis sie vollends die primäre Sehrinde zur Weiterverarbeitung erreicht. Erste Verarbeitungsschritte der visuellen Information erfolgen bereits in der Netzhaut (Lang, 2004).

2.2 Methoden der Elektrophysiologie

Die Elektrophysiologie findet in der augenärztlichen Diagnosestellung seit über 50 Jahren ihre Anwendung. Mehrere der elektrophysiologischen Verfahren haben ihren festen Platz im klinischen Alltag gefunden (Bach & Kellner, 2003). Mit diesen Untersuchungstechniken ist es möglich, die Sehbahn abschnittsweise zu untersuchen. Zu den wichtigsten Indikationen für die Elektrophysiologie gehören hereditäre Erkrankungen der Netzhaut und unklare Visusminderungen (Rüther & Becker, 2008).

Bei den elektrophysiologischen Untersuchungsmöglichkeiten wird zwischen verschiedenen Methoden differenziert. Das Elektroretinogramm (ERG), das multifokale Elektroretinogramm (mfERG), das Elektrookulogramm (EOG) sowie das Muster-Elektroretinogramm (PERG) untersuchen die Funktion der Retina. Diese Methoden unterscheiden sich untereinander darin, dass sie verschiedene Zellarten in der Netzhaut überprüfen. Zudem gibt es weitere Unterscheidungsmerkmale. Während das ERG und das Muster-ERG eine Summation aller Gesichtsfeldbereiche, die gemessen werden, darstellt, zeigt das multifokale ERG Ableitungen einzelner Gesichtsfeldareale. Weitere Verfahren beschäftigen sich mit den Antworten des visuellen Cortex wie die Ableitungen des Visuell evozierten Potenzials (VEP), die objektive Visusprüfung mittels Visus-VEP und das multifokale VEP (mfVEP).

Entscheidend für die Einführung der Elektrophysiologie in den klinischen Gebrauch war die Entwicklung von Standards für die verschiedenen elektrophysiologischen Untersuchungsmethoden. Diese wurden von der „International Society for Clinical Electrophysiology of Vision“

(ISCEV) konzipiert und festgelegt. Durch die Standardisierung lassen sich die Ergebnisse der Messungen nun leichter z.B. mit Messungen anderer Patienten oder mit älteren Untersuchungen vergleichen. Des Weiteren wird damit den Ärzten und der Industrie eine Untersuchungsreihenfolge empfohlen, welche die Anforderungen an eine qualitative Messung erfüllt (Bach & Kellner, 2003). Die ISCEV prüft alle vier Jahre die Standards der elektrophysiologischen Methoden (www.ISCEV.org). Im Folgenden werden das ERG, das mfERG und das PERG näher behandelt.

2.2.1 Das Ganzfeld-Elektroretinogramm (ERG)

Das Ganzfeld-Elektroretinogramm (ERG) ist eine weitverbreitete elektrophysiologische Methode zur Prüfung der Netzhautfunktion (Marmor et al., 2008). Bei Lichteinfall kommt es zur Reaktion der lichtempfindlichen Photorezeptoren. Es entstehen Spannungsänderungen, die an darauffolgende Netzhautzellen übermittelt werden. Die Summenantwort der lichtabhängigen Potentialdifferenzen der äußeren und mittleren Netzhautschichten der gesamten Netzhaut können im Elektroretinogramm gemessen werden. Die Messung der Spannungsunterschiede wird durch die Tatsache ermöglicht, dass eine Weiterleitung der Potentiale im Auge an die Augenoberfläche erfolgt (Rüther & Becker, 2008).

Um die elektrische Antwort auf einen Sehreiz messen zu können, werden spezielle Elektroden verwendet. Hierbei gibt es unterschiedliche Elektrodentypen, die in der Elektrophysiologie Anwendung finden. Es existieren beispielsweise Hornhautelektroden, die ähnlich einer Kontaktlinse auf die vorher betäubte Hornhaut aufgesetzt werden, Arden-Goldfolien-Elektroden sowie DTL-Elektroden (s. Abbildung 3.1) aus leitfähigen, metallbedampften Kunststoff-Fasern (Alexandridis, 1997). Die DTL-Elektrode kam 1979 zum ersten Mal in der Elektrophysiologie zum Einsatz und wurde nach ihren Entdeckern Dawson, Trick & Litzkow benannt (Dawson, Trick & Litzkow, 1979). Die Vorteile der DTL-Faser liegen in ihrer großen Flexibilität, dem geringen Fremdkörpergefühl und dem niedrigen elektrischen Widerstand. Außerdem entfällt wegen dem einmaligen Gebrauch des Fadens die anschließende Desinfektion. Es ist wichtig, dass Elektroden verwendet werden, die in direktem Kontakt entweder zur Hornhaut oder zur bulbären Bindehaut stehen. Somit werden die Voraussetzungen für eine gute Ableitung der elektrischen Potentiale gewährleistet. Die Referenzelektroden können z.B. nah dem Orbita- rand auf jeder Seite platziert werden. Zur Erdung dient eine Napfelektrode am Ohr läppchen. Für diese Methode gibt die ISCEV Standards als Empfehlung für die klinische Untersuchung vor (Marmor et al., 2008).

Als Untersuchungsgerät wird das Ganzfeld verwendet. In der innen weißen Kugel werden Lichtblitze als Sehreiz projiziert. Es ist bei dieser Untersuchung eine Mydriasis erforderlich,

damit genügend Licht gleichmäßig auf die Netzhaut fällt. Zudem ist eine Dunkeladaptation vor der Messung notwendig. Während der Untersuchung werden über das Ganzfeld Lichtreize steigender Helligkeit dargeboten, wobei der Patient einen roten Punkt in der Kugel fixieren muss. Es wird zunächst die Funktion der Stäbchen geprüft, bis dann auch die Zapfen auf die Lichtreize ansprechen. Im Anschluss erfolgt eine Helladaptation. Demgemäß kann die Zapfenantwort isoliert betrachtet werden. Danach werden weitere Blitze für die Prüfung der Zapfenfunktion in der Halbkugel präsentiert (Marmor et al., 2008).

Das Ergebnis der Untersuchung wird mittels Messkurven dargestellt (s. Abbildung 2.4 und 2.5). Diese Kurven zeigen die Spannungsänderungen der Netzhaut, die bei verschiedenen Lichtblitzen entstehen. Die Messkurven kann man in unterschiedliche Bereiche einteilen. Die a-Welle zeigt hauptsächlich die Antwort der Photorezeptoren und die b-Welle veranschaulicht größtenteils die Reizverarbeitung der Bipolarzellen. Zusätzlich kann man auf der zunehmenden Komponente der b-Welle kleine Auslenkungen entdecken. Dies sind die oszillatorischen Potentiale, die vermutlich die Funktion der Horizontal- oder Amakrinzellen abbilden. Die oszillatorischen Potentiale werden erst „richtig“ sichtbar, wenn man die Signale so filtert, dass nur hohe Frequenzen über 100 Hz zu sehen sind. Durch die Beurteilung der beiden Kurvenanteile kann man erkennen, ob und welche Netzhautzellen in ihrer Aktivität gestört sind und um welches Ausmaß es sich dabei handelt (Bach, 1996).

Das Ganzfeld-Elektroretinogramm gehört zu den wichtigsten Untersuchungsmethoden bei Verdacht auf eine vererbte Netzhauterkrankung und wird häufig auch zur Differenzialdiagnose bestimmter Augenkrankheiten genutzt. Bei einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie erkennt man z.B. die stärkste Veränderung der Ableitung bei hellen Lichtblitzen, da im Wesentlichen die Zapfen betroffen sind. Bei der Retinitis Pigmentosa hingegen ist die Antwort aufgrund der angegriffenen Stäbchen bei schwachen Lichtreizen verändert. Patienten mit einer kongenitalen stationären Nachtblindheit (CSNB), mit Retinoschisis, aber auch mit bestimmten Durchblutungsstörungen weisen insbesondere eine Störung der b-Welle auf. Bei CSNB ist jedoch zur fehlenden b-Welle zusätzlich die a-Welle verlängert. Die reduzierte b-Welle führt zu einem sogenannten elektronegativen ERG (Bach, 1996).

Eine große Hilfe bietet das ERG ebenso bei der Beurteilung der Prognose einer Augenerkrankung, da mit der Methode der Grad der Funktionsstörung festgestellt werden kann. Sobald ein Verdacht auf eine hereditäre Netzhautdegeneration besteht, wird geraten, mindestens ein ERG abzuleiten, um bei der Stellung der Diagnose sicher gehen zu können. Auch Verlaufskontrollen sind mit der Ableitung eines ERGs möglich. Zudem findet das ERG bei zahlreichen Studien Anwendung, bei denen die Bewertung der Netzhautaktivität eine Rolle spielt (Rüther & Becker, 2008).

Dunkeladaptiertes (skotopisches) Blitz-ERG

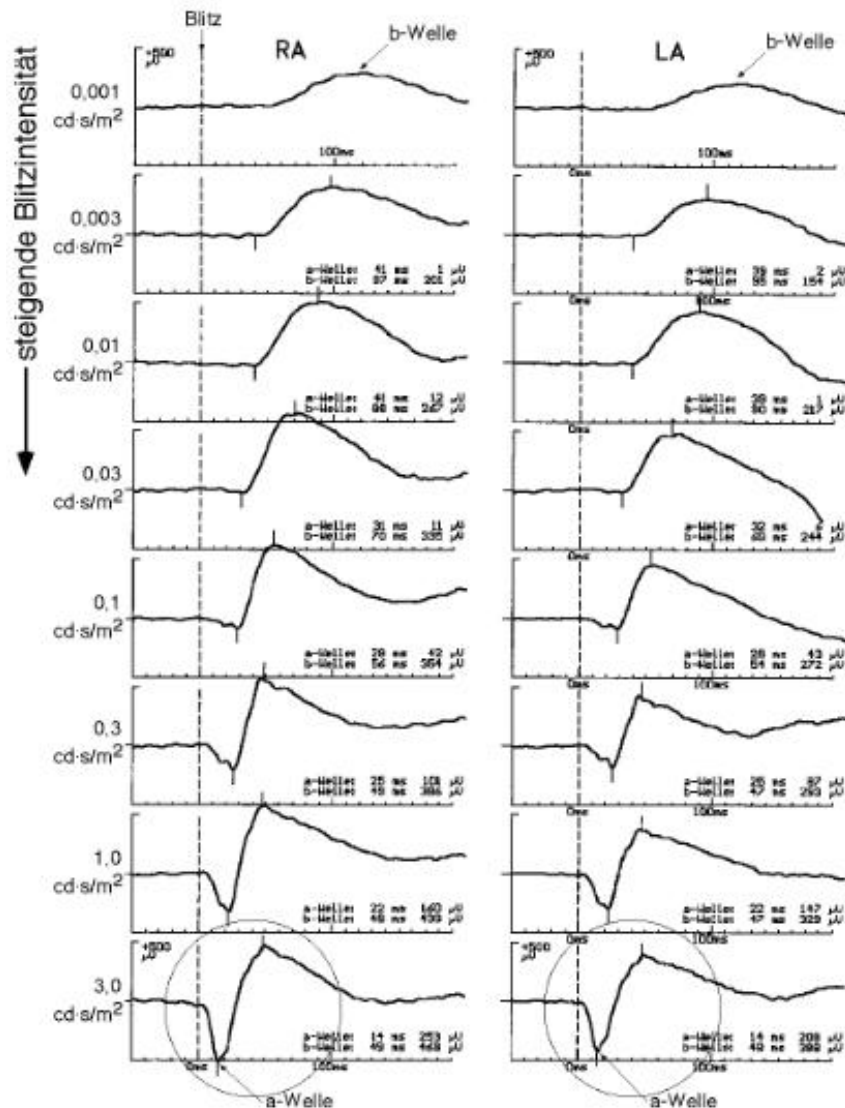


Abbildung 2.4: **Dunkeladaptiertes Blitz-ERG, Stäbchensignale:** ERG des rechten und linken Auges eines gesunden Menschen. Die Blitzintensitäten steigen bei den 8 verschiedenen Blitzreizen von oben nach unten an. Bei geringer Blitzintensität ist die b-Welle sichtbar (Pfeile oben), mit höherer Blitzintensität wird ihre Amplitude erst einmal größer und bleibt im Großen und Ganzen unverändert, wenn die a-Welle (Pfeile unten) zum Vorschein kommt. Die a-b-Wellenkombination bei hoher Blitzintensität ist unten eingekreist und stellt die wichtigste Antwort dar (Bach, 1996).

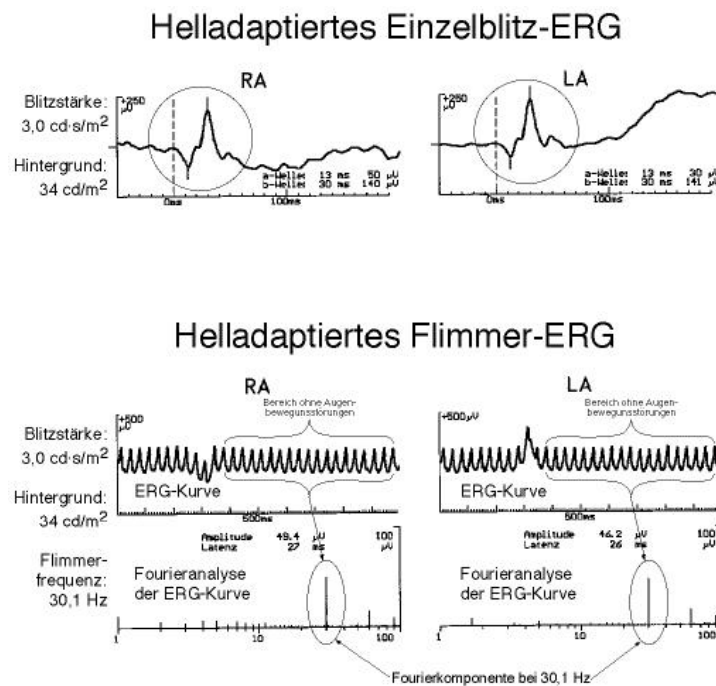


Abbildung 2.5: **Helladaptiertes Blitz-ERG**: Das photopische Blitz-ERG stellt die Antwort der Zapfen dar. Beim rechten und linken Auge ist im Kreis eine typische normale Kurvenform erkennbar. Als Antwort auf eine Folge von Blitzreizen mit einer Frequenz von 30 Hz ergibt sich das photopische Flimmer-ERG (Bach, 1996).

Das ERG gibt eine Summenantwort der gesamten Retina wieder. Deshalb besteht die Möglichkeit, dass das Messergebnis keine Auffälligkeiten aufweist, wenn es sich um eine Erkrankung der Makula handelt. Der Grund hierfür ist der geringe Anteil der Netzhautmitte von ca.3% an der gesamten Retina (Bach & Keller, 2003). Um die Makula genauer zu untersuchen, sollte deshalb ein multifokales ERG abgeleitet werden.

2.2.2 Das multifokale Elektroretinogramm (mfERG)

Das multifokale Elektroretinogramm (mfERG) wurde von Erich E. Sutter entwickelt (Sutter & Tran, 1992). Diese Methode ermöglicht im Gegensatz zum Ganzfeld-ERG die simultane Messung mehrerer Netzhautantworten an verschiedenen Stellen. Das mfERG gibt also eine lokale lichtabhängige Summenantwort der äußeren und mittleren Netzhautschichten am hinteren Pol wieder (Lai et al., 2007). Für die Untersuchung mit dem multifokalen ERG wurden von der ISCEV zur Orientierung ebenfalls Richtlinien entwickelt (Hood et al., 2007). Bei der Untersuchungsmethode wird eine spezielle Reizform eingesetzt. Mit ihr wird vorwiegend die Funktion der Photorezeptoren und der Bipolarzellen in der Netzhautmitte gemessen.

Aufgrund der Helladaptation und der Tatsache, dass sich in der Makula hauptsächlich Zapfen befinden, untersucht das mfERG insbesondere die Zapfenaktivität (Bach & Keller, 2003). Die Elektrodenposition entspricht der Anordnung wie bei einem Ganzfeld-ERG. Die Ableitung erfolgt mittels Kontaktlinsenelektroden oder Fadenelektroden, die an die Bindehaut zwischen dem Unterlid und Augapfel angelegt werden. Die Hautelektroden werden an den Schläfen und am Ohr zur Erdung angebracht. Auch hier ist es nötig, die Pupillen vor der Messung weitzustellen. Man verwendet jedoch beim mfERG keine Ganzfeld-Kugel sondern einen Computermonitor, der dem Untersuchten ein bestimmtes Muster aus 61 oder 103 aneinander anliegenden Sechsecken darbietet. Damit die Gesamthelligkeit konstant bleibt, sind immer ungefähr gleichviele Sechsecke entweder schwarz oder weiß (Hood, 2000). Um sicherzustellen, dass der Patient während der Messung nicht umherblickt, muss dieser einen Fixierpunkt in der Mitte des Bildschirms fokussieren.

Jedes dieser Sechsecke wechselt im Verlauf der Untersuchung seine Leuchtdichte. Ein spezielles Programm sorgt dafür, dass der Leuchtdichtewechsel in einer genauen mathematisch festgelegten Reihenfolge der sogenannten „m-Sequenz“ erfolgt. Da dem Computer die Reihenfolge des Wechsels bekannt ist, besteht die Möglichkeit, aus der abgeleiteten Kurve eine genaue Zuordnung jenes Netzhautareals zu treffen, von dem eine bestimmte Reizantwort stammt. Unterschieden werden dabei Ableitungen erster und höherer Ordnung. Im klinischen Alltag sind jedoch hauptsächlich die Ableitungen 1.Ordnung, die sogenannten First-Order Kernel, interessant (Hood, 2000).

Das Resultat der multifokalen ERG-Messung wird in einer Art Karte veranschaulicht (s. Abbildung 2.6). Dabei wird für jedes Sechseck im Makulabereich die zugeordnete Reizantwort, die eine Ähnlichkeit zur ERG-Antwort aufweist, angezeigt. Bei der Auswertung sind wie beim Blitz-ERG die Amplitude und die Gipfelzeit entscheidend (Rüther & Becker, 2008).

Die Ergebnisse können unterschiedlich dargestellt werden. Die häufigste Art, die ausgewerteten Daten zu veranschaulichen, ist die Darstellung der Originalantworten für jedes der 61 Felder. Des Weiteren können die entsprechenden Kurven der Originalantworten zu Ringen gleicher Exzentrizität summiert werden. Diese Ringgruppenanalyse stellt bei 61 Feldern fünf Kurven der so entstandenen fünf Ringe dar. Zudem gibt es eine 3D-Farbdarstellung (s. Abbildung 2.7) z.B. des Skalarprodukts (Rüther & Becker, 2008). Normalerweise wird diese Darstellungsform der mfERG-Messung nur zur groben Übersicht verwendet. Ansonsten sind zur Beurteilung die Originalkurven empfehlenswert.

Jede Erkrankung hat ihre typischen Veränderungen, die in der mfERG-Messung sichtbar werden. Bei einer Makuladytrophie sind hauptsächlich die Reizantworten im Bereich der Makula reduziert. Im Gegensatz dazu können bei der Retinitis Pigmentosa und der Choroidermie

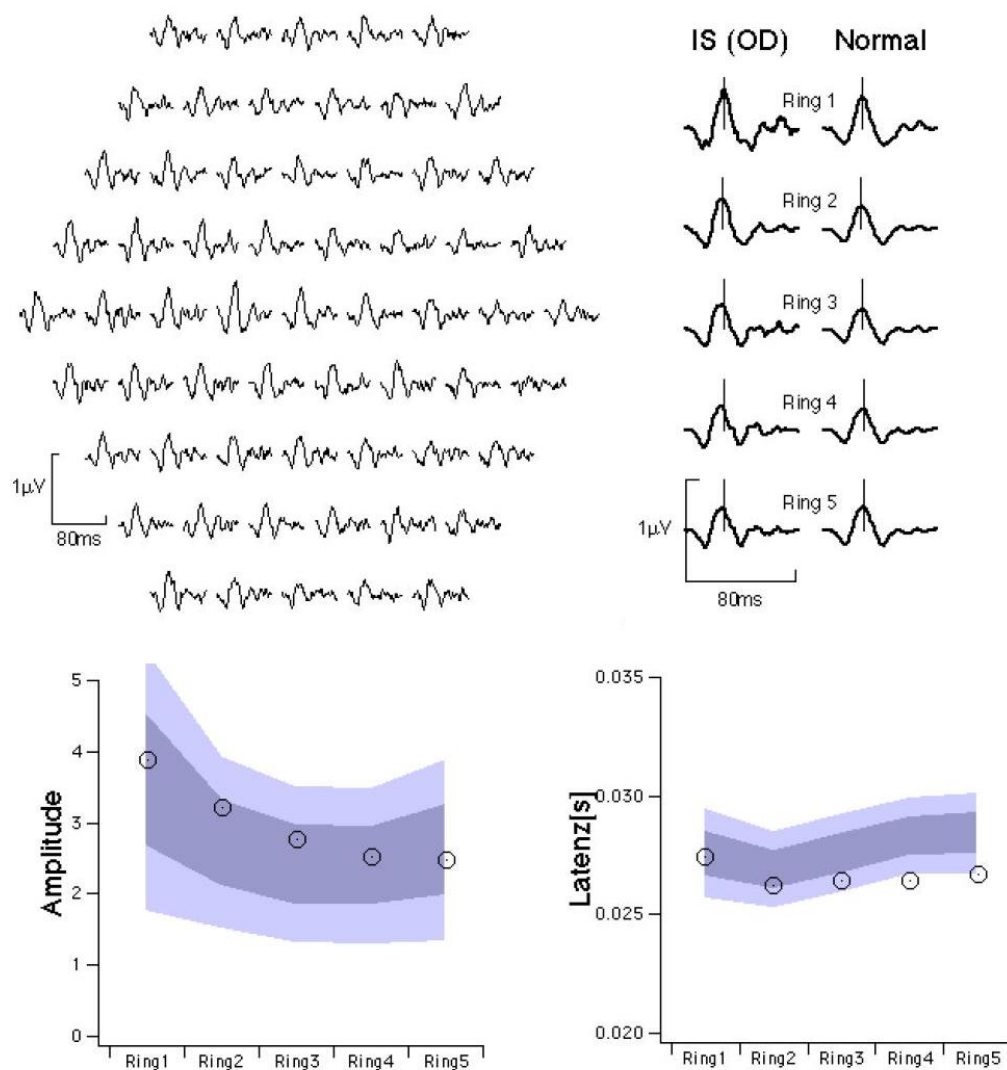


Abbildung 2.6: **mfERG eines gesunden Auges:** Darstellung der multifokalen ERG-Messung eines gesunden Menschen. Hierbei sind die elektrischen Antworten an verschiedenen Netzhautstellen des zentralen Gesichtsfeldes veranschaulicht. Da bei dieser Messung mit 61 Sechsecken stimuliert wurde, sind in der Ergebnisdarstellung der mfERG Ableitung im Bild links oben ebenfalls 61 Originalantworten zu erkennen. Rechts sieht man die Ringgruppenanalyse, bei der die 61 Antworten zu 5 Ringen gleicher Exzentrizität summiert wurden. In den Abbildungen unten werden die Amplituden und die Latenz aufgezeigt. Der farbige Bereich stellt den Normbereich dar. Dabei steht das dunkel gekennzeichnete Areal für die erste Standardabweichung ($\pm\sigma$). Die hellen Streifen zeigen die zweite Standardabweichung ($\pm 2\sigma$). Amplituden und Latenz sind in diesem Beispiel regelrecht.

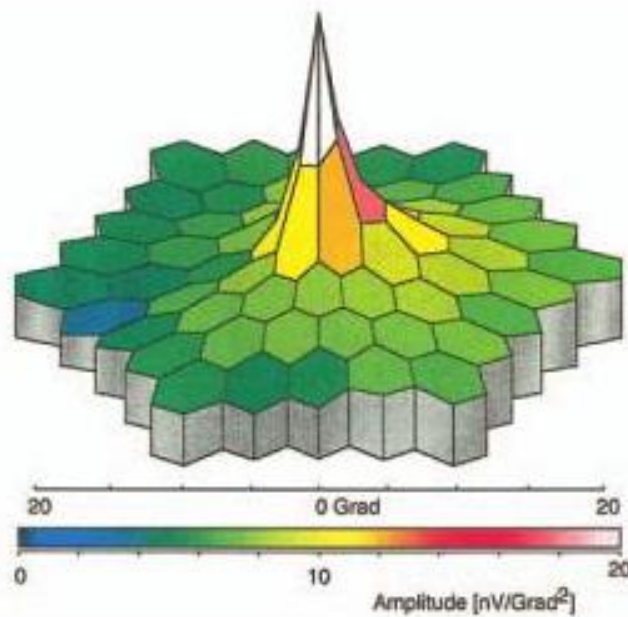


Abbildung 2.7: **Dreidimensionale Darstellung des mfERGs:** Die unterschiedlichen Amplitudenwerte werden in verschiedenen Farben veranschaulicht. Der Gipfel in der Mitte stellt die Makula dar. Hier sind die Amplituden am höchsten. Normalerweise wird diese Darstellungsform der mfERG-Messung nur zur groben Übersicht verwendet. Ansonsten sind zur Beurteilung die Originalkurven empfehlenswert (Grehn, 2008).

im Zentrum immer noch elektrische Antworten gemessen werden. Bei der Zapfen-Stäbchen-Dystrophie sind wiederum in fast allen Bereichen die Reizantworten nicht mehr ableitbar. Das multifokale ERG spielt eine beachtliche Rolle bei der Früherkennung von Makulaerkrankungen, da Störungen der Aktivität der Zellen im Netzhautzentrum früh festgestellt werden können, bevor Fundusveränderungen sichtbar werden. Genauso kann das mfERG zur Analyse des Ausmaßes der Funktionsstörung verwendet werden. Allerdings ist dies nur hilfreich, solange die Makulaerkrankung noch nicht weit fortgeschritten ist. Bei Retinitis Pigmentosa eignet sich das mfERG zur Verlaufskontrolle. Denn obwohl das Ganzfeld-ERG nicht mehr nachweisbar ist, können beim multifokalen ERG Reizantworten des Makulabereichs noch ableitbar sein. Eine entsprechende Indikation für ein mfERG ist auch bei vaskulären Netzhauterkrankungen wie bei Arterienverschlüssen oder bei der diabetischen Retinopathie gegeben (Rüther & Becker, 2008).

2.2.3 Das Muster-Elektroretinogramm (PERG)

Das Muster-Elektroretinogramm (Englisch: Pattern-ERG kurz PERG) ist eine elektrophysiologische Antwort, die man durch Reizung der zentralen Netzhaut mit einem invertierenden Schachbrettmuster aus schwarzen und weißen Karos erhält. Dabei bleibt die Reizhelligkeit stets konstant. Mit dem Muster-ERG ist es möglich, einen objektiven Hinweis auf die Makulafunktion zu erlangen. Unter Berücksichtigung des Ursprungs des Muster-ERGs aus der inneren Netzhaut ermöglicht es zudem die direkte Messung der Ganglienzellfunktion (Holder, 2001).

Die Ganglienzellen sind mit den Photorezeptoren in der äußeren Schicht der Netzhaut und den Bipolarzellen in der mittleren Netzhautschicht verschaltet. Aus diesem Grund besteht die Möglichkeit, mit dem Muster-ERG die Aktivität aller Netzhautschichten im Bereich der Makula zu beurteilen.

Die ISCEV hat für das Muster-ERG gleichermaßen Standards erarbeitet, die den Laboren bei denen das PERG zum Einsatz kommt, empfohlen werden (Holder et al, 2007). Beim PERG wird mit einem Schachbrettmuster aus weißen und schwarzen Karos gearbeitet, die dem Patienten auf einem Bildschirm gezeigt werden. Beim Musterwechsel werden die weißen Felder schwarz und die schwarzen simultan weiß. Außerdem werden dem Patienten während der Messung Karos verschiedener Größe angeboten. Im Gegensatz zum ERG ist beim Muster-ERG nicht die Helligkeit relevant, damit Reizantworten ausgelöst werden, sondern der Musterwechsel, auf den die Ganglienzellen reagieren. Der Wechsel findet mit einer definierten Frequenz statt und ist wichtig für die anschließende Auswertung (Alexandridis, 1997).

Die Elektroden werden an den selben Stellen wie bei den zuvor beschriebenen Methoden angebracht. Zudem gibt es beim Muster-ERG ebenso ein Fixierkreuz im Zentrum des Musters, das der Untersuchte anvisieren soll. Bei dieser Methode ist es wichtig, dass die Untersuchung mit spielender Pupille erfolgt, also kein Mydriatikum vorher getropft wird, um so eine optimale Erkennung des Musters zu gewährleisten. Darüber hinaus sollte eine eventuell vorhandene Fehlsichtigkeit vor der Messung bestmöglich korrigiert werden. Um eine zufriedenstellende Ableitung eines PERGs zu erhalten, gilt die Bedingung, dass das Muster gut erkannt werden soll. Bei verminderter Sehschärfe oder Trübung der physiologisch klaren Medien der Augen kann es zu Veränderungen im Muster-ERG kommen (Holder et al., 2007).

Das resultiert aus dem abnehmenden Kontrast des Netzhautbildes, insbesondere bei kleinen Karos. Wenn der Kontrast abnimmt, dann nimmt auch die Amplitude des PERGs etwa linear ab (Bach, 1996).

Die empfangene Spannung ist sehr klein und bewegt sich im Bereich von 0,5-8 μV (Bach et al., 2000). Da die Reizantworten sehr niedrig sind, muss das Mitteln über viele Durchläufe

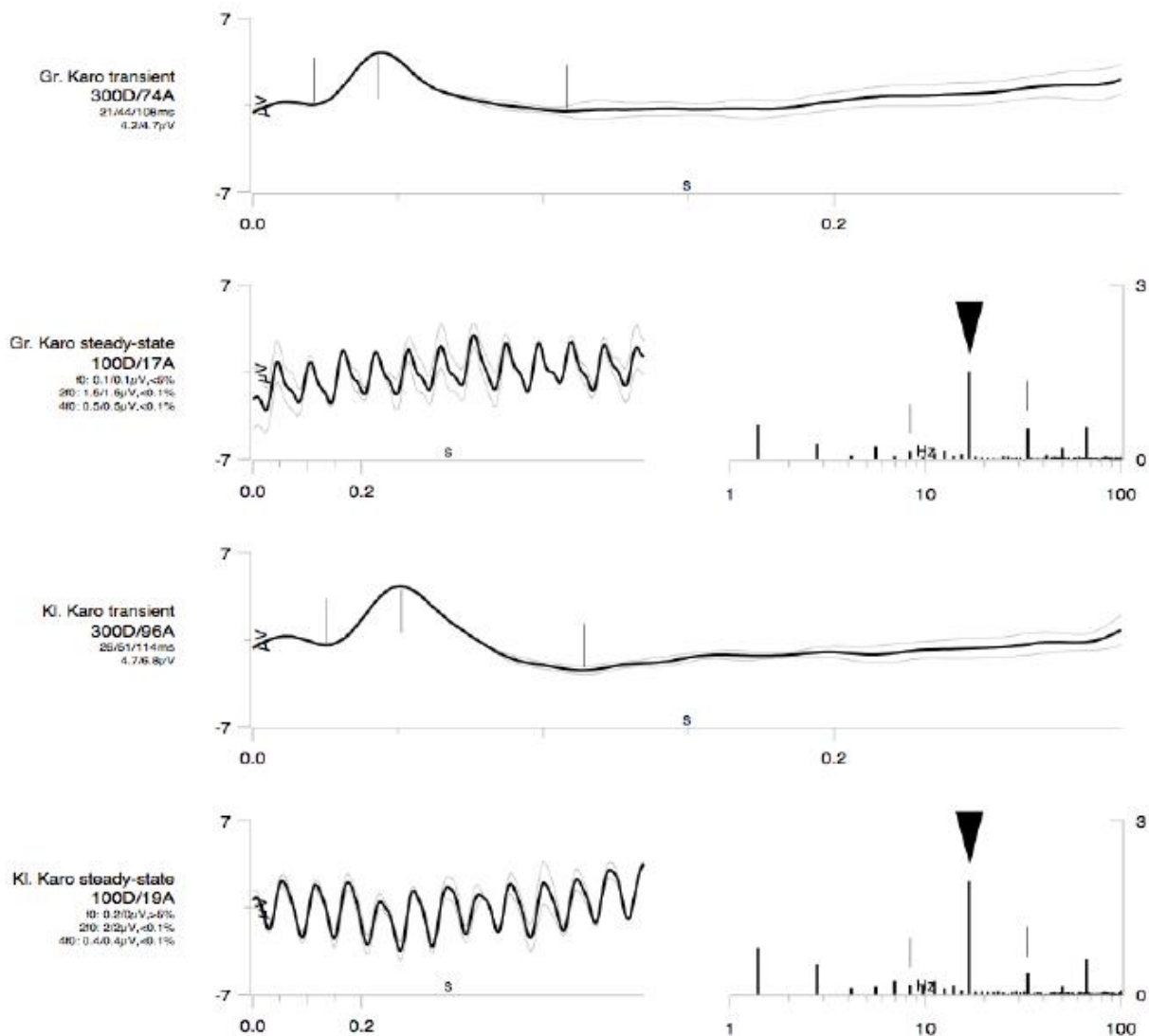


Abbildung 2.8: **PERG eines gesunden Auges:** Das erste Bild zeigt die transiente Ableitung bei großen Karos und das dritte bei kleinen Karos. Bei beiden Kurven sind N35, P50 und N95 durch senkrechte Striche gekennzeichnet. Das zweite Bild steht für die steady-state Antworten bei großen Karos und das vierte bei kleiner Karogröße. Neben den Ableitungen sind links jeweils die Anzahl der Durchläufe und der Artefakte dargestellt. Außerdem können die Gipfelzeit und die Amplitudenwerte abgelesen werden. Die Pfeile bei den steady-state Messungen markieren die $2f_0$ -Antwort, die für die Auswertung wichtig ist (s. Kapitel 3.9.2).

erfolgen. Der Computer übernimmt dann die Mittelung der Durchläufe.

Unterschieden wird beim PERG zwischen transienter Reizung bei sehr niedrigen Frequenzen im Bereich unterhalb von 3 Hz und steady-state Reizung ab ca. 5 Hz. Charakteristisch für ein transientes Muster-ERG sind drei verschiedene Gipfel (s. Abbildung 2.8). Der als N35 bezeichnete negative Ausschlag ist nach ca. 35 ms zu erkennen. Nach 50 ms erscheint die positive Komponente, die den Namen P50 trägt. Anschließend folgt nach 95 ms ein zweites Tal, das N95 genannt wird. Der Abschnitt des P50 ist eine Kombination aus Antworten der inneren und äußeren Zellen der Netzhaut. Der Teil der Welle, der dem N95 entspricht, gehört zur Antwort der Ganglienzellen (Holder et al., 2007). Für die Auswertung der steady-state Antworten wird eine Fourier-Analyse zur Hilfe genommen (Bach & Meigen, 1999).

Lange Zeit gehörte die Diagnostik von Makulaerkrankungen ebenfalls zu den Indikationen für eine Untersuchung mit dem Muster-ERG. Durch die Entwicklung des mfERGs entfiel daraufhin der Einsatz des PERGs. Heute zählt vor allem die Begutachtung der Ganglienzellfunktion zu den Anwendungsgebieten des Muster-ERGs. Die Ganglienzellfunktion ist speziell beim Glaukom verändert. Bei der Analyse der Ganglienzellen werden verschiedene Karogrößen miteinander verglichen. Sollte das Muster-ERG bei kleinen Karos nicht den Normwerten entsprechen, aber bei großen normal sein, dann liegen zwei Optionen vor. Eine Möglichkeit ist das Bestehen einer ungenügenden optischen Abbildung. Im schlimmeren Fall ist das ein klassisches Anzeichen für den Beginn eines Glaukoms (Bach, 1996).

2.3 Perimetrie

Unter Perimetrie versteht man in der Augenheilkunde die schematische Untersuchung des Gesichtsfeldes. Mit dieser Methode werden die Außengrenzen des Gesichtsfeldes ermittelt und das Lichtunterscheidungsvermögen getestet. Dabei wird jedes Auge einzeln untersucht. Als Gesichtsfeld wird die Summe aller Punkte im Raum bezeichnet, die man mit ruhendem Auge beim Blick geradeaus wahrnehmen kann. Nicht zu verwechseln ist es mit dem Blickfeld. Dieses beschreibt nämlich das Wahrnehmungsfeld beim umherblickenden Auge (Schiefer et al., 2008).

Bei vielen verschiedenen Netzhaut- und Sehbahnerkrankungen treten Gesichtsfeldausfälle auf, die abhängig von Lage und Ausmaß der Einschränkung beim Betroffenen immense Probleme im Alltag verursachen können. Folglich ist die Untersuchung des Gesichtsfeldes essentiell für das Erkennen und Unterscheiden von Krankheiten. Zudem kann man den Verlauf von Erkrankungen mit Hilfe der Perimetrie dokumentieren und auch bei Gutachten und Eignungsbeurteilungen ist sie von großer Relevanz. Zu den wichtigsten Indikationen für eine

Gesichtsfelduntersuchung gehören Anzeichen auf Sehbahnläsionen, wie auch das Bestehen eines relativen afferenten Pupillendefekts (RAPD). Ein weiteres Motiv für eine Perimetrie liefern unklare Sehstörungen, wozu die Nyktalopie (Nachtblindheit), die Farbentsättigung, der Helligkeitsverlust, die Lesestörung und die Orientierungsstörung zählen (Schiefer et al., 2008).

Gesichtsfelddefekte werden Skotome genannt, wobei man zwischen absoluten und relativen Skotomen differenziert. Beim absoluten Skotom ist ein kompletter Verlust des Sehens in diesem Bereich vorhanden. Beim relativen Skotom hingegen ist die Wahrnehmung nur teilweise vermindert. Je nach Erkrankung entstehen verschiedene Ausfälle, wie z.B. ein Zentral- oder Parazentralskotom bzw. bei Ausfällen in der Peripherie ein konzentrischer Ausfall, wie es bei Retinitis Pigmentosa typisch ist (Grehn, 2008).

Die Untersuchung muss stets unter gleichen Voraussetzungen erfolgen. Die Helligkeit der Lichtmarke genauso wie die des Hintergrundes sollten bei allen Gesichtsfeldmessungen konstant gehalten werden. Es muss für eine bestmögliche Korrektur von Fehlsichtigkeiten gesorgt werden und bei mehrmaliger Untersuchung muss auf den gleichen Pupillendurchmesser geachtet werden (Grehn, 2008). Ebenso wichtig für die Untersuchung ist ein abgedunkelter Raum, damit kein anderes Licht in die Perimeterkugel fällt. Dieser Raum sollte zudem vor störenden Geräuschen abgeschirmt sein, damit sich der Patient entspannen und konzentrieren kann (Schiefer et al., 2008).

Der Patient muss während der Gesichtsfeldprüfung einen Punkt im Zentrum einer Perimeterhalbkugel fixieren. Dabei ist ein Auge mit einer Augenklappe verdeckt. In der weißen Kugel tauchen Lichtmarken auf. Sobald der Patient den Lichtreiz wahrnimmt, muss er dies mit Hilfe eines Knopfdrucks akustisch signalisieren (Lang, 2004). Bei der Perimetrie unterscheidet man mehrere Formen, wobei im Folgenden auf die statische und vor allem die kinetische Perimetrie eingegangen wird.

2.3.1 Kinetische Perimetrie

Durchführung

Für diese Methode werden Halbkugelperimeter nach Goldmann eingesetzt. Die Lichtmarken sind bei der kinetischen Perimetrie beweglich und werden mit einem Hebel vom Untersucher aus der Peripherie Richtung Mitte gelenkt. Es werden Lichtmarken verschiedener Größe und Leuchtdichte getestet. Verbindet man die Punkte der Stimuli, die gleich groß sind und von gleicher Lichtintensität, entstehen Linien derselben Wahrnehmung. Diese Linien bezeichnet man als Isopteren. Da die Empfindlichkeit der Netzhaut zentral zunimmt, werden zunehmend

kleinere und lichtschwächere Testpunkte verwendet, sodass die Isopteren zum Zentrum hin ebenfalls einen kleineren Durchmesser aufweisen. Der Untersucher dokumentiert während der Untersuchung die erkannten Lichtpunkte auf einem Vordruck und beobachtet die Fixation des Patienten, die für die Aussagekraft der Ergebnisse wichtig ist. Die kinetische Perimetrie bietet den positiven Aspekt, dass Untersucher und Patient während der Sitzung in Kommunikation stehen. Dies kann gerade bei älteren Patienten von Vorteil sein, weil das Tempo angepasst werden kann. Die kinetische Methode kommt vor allem bei Gutachten zum Einsatz (Schiefer et al., 2008, Lang, 2004). In Abbildung 2.9 ist die Prüfung des Gesichtsfeldes schematisch dargestellt.

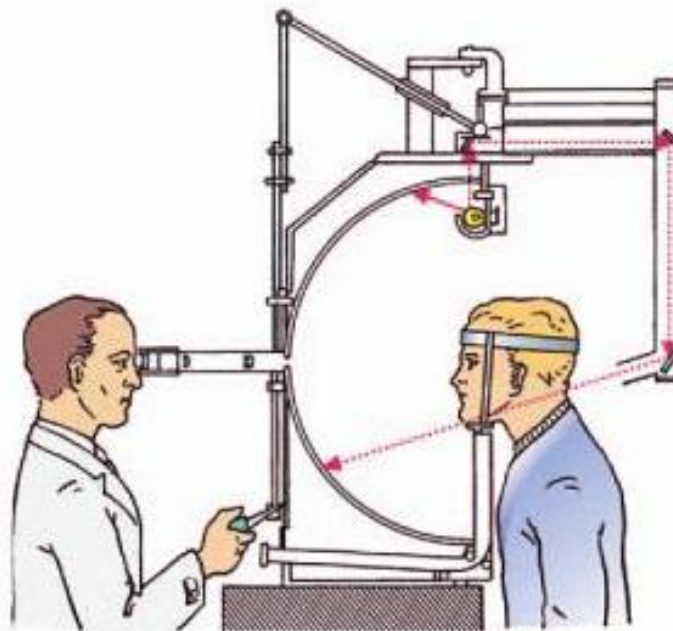


Abbildung 2.9: **Schematische Darstellung der Gesichtsfeldmessung mit dem Goldmann-Perimeter:** Der Untersucher (links) kann während der Untersuchung die Fixation des Patienten (rechts) durch ein Fernrohr beobachten. Durch eine Augenklappe wird das nicht untersuchte Auge abgedeckt. Die Position der Lichtmarken wird mittels eines Hebels durch den Untersucher bestimmt (Grehn, 2008).

Auswertung

Punkte gleicher Netzhautempfindlichkeit sind diejenigen Punkte im Gesichtsfeld, an denen der Patient Stimuli derselben Größe und Leuchtdichte als erstes registriert. Die Isoptere stellt die Verbindungslinie zwischen diesen Punkten dar. Bei geringerer Helligkeit und Größe der Testmarken nähern sich die Isopteren dem Gesichtsfeldzentrum, weil die Netzhautempfindlichkeit

im Zentrum höher ist als in der Peripherie. Die Verbindungslinien erinnern an Höhenlinien eines Gebirges auf einer Karte. Für die Größe und Leuchtdichte der Prüfmarken werden zur Differenzierung verschiedene Zahlen verwendet. Römische Ziffern stehen dabei für die Größe und arabische für die Helligkeit. Man kann auch ein binokulares Gesichtsfeld erstellen, welches für Gutachten über die Fahrtauglichkeit wesentlich ist. Für die Fahrtauglichkeit ist es wichtig, dass Gesichtsfeldausfälle beider Augen sich nicht überdecken (Schiefer et al., 2008, Grehn, 2008). Die Abbildung 2.10 zeigt ein Gesichtsfeld eines gesunden Menschen.

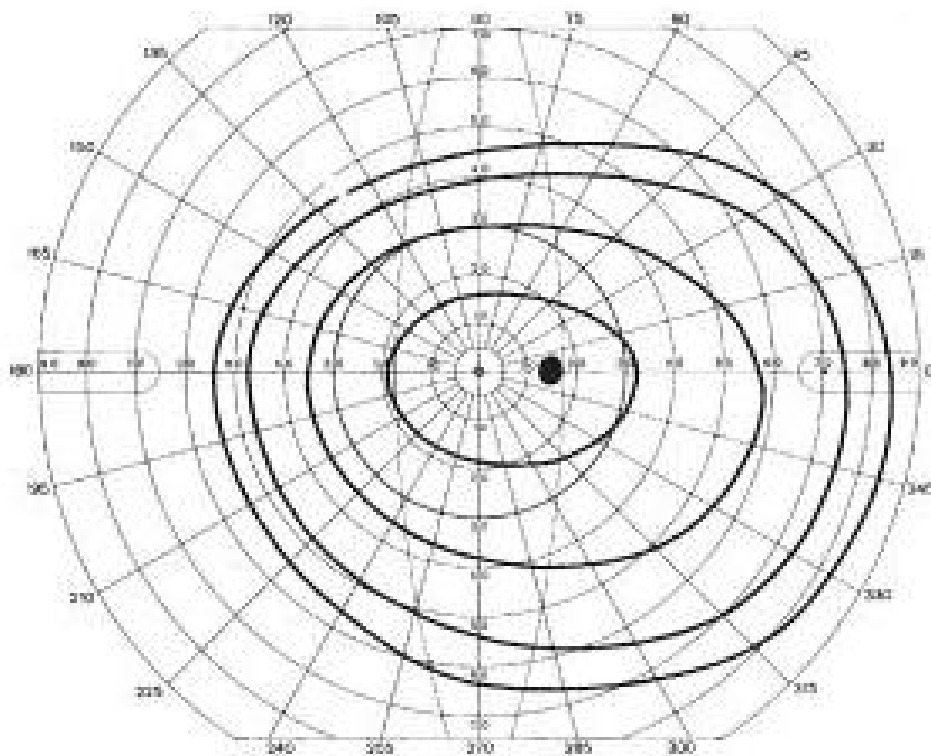


Abbildung 2.10: **Normales Gesichtsfeld eines gesunden 20- bis 30 Jährigen bei kinetischer Perimetrie:** Die Isopteren sind für verschiedene Lichtmarken (I4, I3, I2 und I1) eingezeichnet. Der blinde Fleck liegt normalerweise 10-20 Grad parazentral horizontal, beim rechten Auge rechts, beim linken Auge links (Grehn, 2008).

2.3.2 Statische Perimetrie

Durchführung

Für die statische Perimetrie benutzt man weitgehend Geräte, die vom Computer gesteuert werden, wie beispielsweise den Humphrey-Field-Analyzer oder das Gerät der Serie „Octopus“ der Firma Haag-Streit. Bei dem statischen Verfahren werden im Gegensatz zur kinetischen Perimetrie die Testmarken nicht bewegt, sondern ihre Helligkeit so lange verändert bis sie erkannt werden. Die Helligkeitsschwelle erreicht im Makulabereich die größte Empfindlichkeit und nimmt zur Peripherie hin stetig ab. Im Perimeter leuchten an unterschiedlichen Gesichtsfeldorten statische kleine Reizmarken für einen kurzen Moment auf. Auch hier muss der Patient mit dem Knopfdruck signalisieren, dass er diesen Lichtpunkt bemerkt hat. Sollte er ihn nicht gesehen haben, taucht der Punkt später wiederholt an dieser Stelle etwas heller auf. Wurde die Lichtmarke diesmal registriert, so erscheint sie einige Zeit später erneut dunkler. So findet eine Eingabelung der Reizschwelle für jede getestete Stelle auf der Netzhaut statt. Bei der automatischen Perimetrie sind verschiedene Computerprogramme verfügbar, die auf die medizinische Anforderung angepasst werden können, wie z.B. das Makula-Programm oder das 30-Grad-Gesichtsfeld beim Glaukom (Schiefer et al., 2008, Lang, 2004).

Auswertung

Bei manueller statischer Perimetrie ergibt sich nach Auftragen der Schwellenwerte der Helligkeitsempfindung der geprüften Gesichtsfeldstellen ein „Profil“. Von außen zum Inneren des Gesichtsfeldes steigt die Helligkeitsempfindlichkeit. Bei der automatischen statischen Perimetrie gibt es für die Ergebnisse verschiedene Darstellungsweisen, wie z.B. den Zahlen-, den Graustufen- oder den Farbausdruck. Um zuverlässige Resultate zu erzielen, muss das Netz der Prüfpunkte über das Gesichtsfeld enger gelegt werden und es muss näher an der Wahrnehmungsschwelle untersucht werden. Ansonsten besteht die Gefahr, dass kleine Gesichtsfelddefekte unentdeckt bleiben (Schiefer et al., 2008, Grehn, 2008).

2.4 Fundusautofluoreszenz (FAF)

Das retinale Pigmentepithel übernimmt die Aufgabe, die photosensiblen Netzhautzellen zu versorgen und ihre Abfallprodukte abzubauen (Kapitel 2.1.1). Der Abbau findet in den Zellen des retinalen Pigmentepithels (RPE) statt, wobei es zur Zerlegung der Abbauprodukte in kleinste Einzelteile und zu deren Abgabe in die Aderhaut kommt. Mit dem Alter lagern

sich immer mehr Restprodukte des Abbaustoffwechsels (z.B. Lipofuszin) in den Pigmentepithelzellen ein. Die Entstehung des Lipofuszin tritt speziell dann auf, wenn pathologische Abläufe degenerative Netzhautveränderungen verursachen, wie z.B. bei angeborenen oder erworbenen Krankheiten. Deshalb ist eine zunehmende Anhäufung von Lipofuszin ein Anzeichen für krankhafte Vorgänge. Die Abwesenheit von Lipofuszin weist darauf hin, dass Zellen des retinalen Pigmentepithels verloren gegangen sind. Bei Absterben von einer oder mehreren RPE-Zellen in diesem pathologischen Prozess werden die Zellen mitsamt dem Lipofuszin entsorgt. Daher ist das Wissen darüber, wie das Lipofuszin am Augenhintergrund verteilt ist, eine große Hilfe, um zu beurteilen, in welchem Zustand sich das RPE befindet (Kellner, 2004, Dithmar & Holz, 2008). Das Phänomen der Autofluoreszenz ist in vivo hauptsächlich auf Lipofuszin im RPE zurückzuführen (Delori et al., 1995). Aus diesem Grund ist es damit möglich, die Verteilung von Lipofuszin zu analysieren.

Als Autofluoreszenz wird ein bestimmtes Phänomen bezeichnet, wobei ein Objekt mit Licht einer bestimmten Wellenlänge beleuchtet wird, das Licht jedoch mit einer anderen Wellenlänge emittiert wird. Damit am Fundus das ausgestrahlte Licht ungehindert identifiziert werden kann, wird mit einer besonderen Filtermethode gearbeitet. Durch dieses Verfahren ist eine Begrenzung des Wellenlängenbereichs des eingestrahlten Lichts auf das relevante Gebiet möglich. Anschließend nimmt eine Kamera über einen zweiten Filter nur den Wellenlängenbereich des emittierten Lichts auf (Bellmann et al., 1997).

Zur Messung der Autofluoreszenz am Augenhintergrund wird hauptsächlich der konfokale Laser-Scanning-Ophthalmoskop (Heidelberg Retina Angiograph (HRA)) verwendet. Es werden ca. 30 Bilder aufgenommen, die später zu einem Bild digital miteinander verrechnet werden (Kellner, 2004). Die Fundusautofluoreszenz (FAF) ermöglicht eine Veranschaulichung, wie das Lipofuszin im retinalen Pigmentepithel verteilt ist. Es gibt noch weitere Substanzen, die auch die Fähigkeit zur Autofluoreszenz aufweisen. Bei der Fundusautofluoreszenz wird jedoch vorwiegend die Verteilung von Lipofuszin dargestellt. Da stark fortgeschrittene pathologische Vorgänge die Degeneration des retinalen Pigmentepithels verursachen, fehlt an diesen Stellen Lipofuszin, was sich bei der FAF als dunkle Flecken bemerkbar macht. Dies tritt z.B. bei einer geographischen Atrophie bei altersbedingter Makuladegeneration, aber ebenso bei Morbus Stargardt oder in der Netzhautperipherie bei Retinitis Pigmentosa auf. Ein Hinweis auf aktive degenerative Prozesse ist eine vermehrte Fundusautofluoreszenz, die durch eine zunehmende Ansammlung von Lipofuszin zustande kommt. Derartige degenerative Vorgänge sind bei erblich bedingten Erkrankungen, wie beispielsweise allen Makuladystrophien an der Netzhaut sichtbar. Auch bei erworbenen Erkrankungen, wie der altersbedingten Makuladegeneration oder bei Erkrankungen durch Medikamentennebenwirkungen sind solche

degenerativen Prozesse am Fundus zu erkennen.

Die Einsatzgebiete der Fundusautofluoreszenz sind unter anderem die Differenzierung von Makuladystrophien, die Veranschaulichung anfangs nicht geläufiger Veränderungen des RPE in der Makula bei Retinitis Pigmentosa, die Differenzierung und Verlaufsanalyse bei frühen oder trockenen Formen der altersbedingten Makuladegeneration und die Erkennung einer Netzhautschädigung durch Medikamente wie Chloroquin (Dithmar & Holz, 2008). In Abbildung 2.11 ist die Fundusautofluoreszenz eines gesunden Auges veranschaulicht.

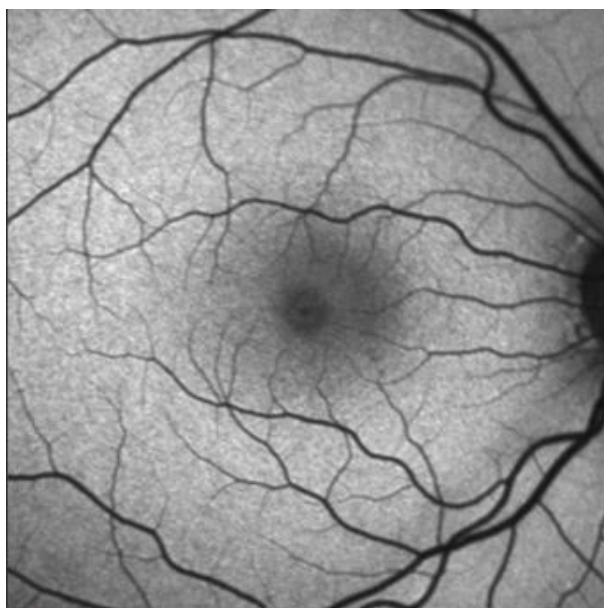


Abbildung 2.11: **FAF eines gesunden Auges:** Man erkennt die Gefäße der Netzhaut, die Ansätze des Sehnerven sowie den makulären Bereich in der Mitte. Es sind keine dunklen Stellen zu sehen und es leuchtet kein Lipofuszin auf, was für eine gesunde Netzhaut spricht.

Im Kontrast zur Fluorescein-Angiografie bietet die Fundusautofluoreszenz die Möglichkeit, die Beschaffenheit des RPE ohne großen Aufwand zu erfassen, ohne dabei Farbstoffe zu verwenden. Aus diesem Grund ist diese Untersuchungsmethode einfach und ohne Risiken wiederholbar, was ein gutes Kriterium für die Messung bei Kindern darstellt. Die FAF bietet außerdem die Option, pathologische Veränderungen früher zu erkennen. In gewissen Fällen treten diese Veränderungen in der Autofluoreszenz des Augenhintergrunds schon auf, bevor sie bei der ophthalmologischen Überprüfung sichtbar werden. Weitere Einsatzmöglichkeiten, aber auch die Grenzgebiete der FAF sind momentan in Forschung. Es wird z.B. bereits mit der Nah-Infrarot Autofluoreszenz gearbeitet (Keilhauer & Delori, 2006). Die FAF ersetzt bereits jetzt bei allen trockenen Netzhauterkrankungen die Fluorescein-Angiografie (Kellner, 2004, Bellmann, 1997).

2.5 Retinitis Pigmentosa

Als Retinitis Pigmentosa (RP) wird eine Gruppe von vererbbaaren Augenkrankheiten bezeichnet, die zu einer Degeneration der Photorezeptoren führen. Im deutschen Sprachgebrauch verwendet man auch den Begriff Retinopathia Pigmentosa, da es keine Entzündung der Netzhaut im eigentlichen Sinne ist (Roberta & Pagon, 1988). Doch international hat sich der Begriff „Retinitis Pigmentosa“ verbreitet. Der Name Pigmentosa stammt von den für die Erkrankung typischen Ablagerungen von Pigment in die Retina (Lang, 2004).

Weltweit sind mehr als eine Million Menschen von dieser Augenerkrankung betroffen. Retinitis Pigmentosa kann auf verschiedene Weise vererbt werden. Entweder autosomal-dominant (ca. 30-40% der Fälle), autosomal-rezessiv (ca. 50-60% der Fälle) oder x-chromosomal (ca. 5-15% der Fälle) (Hartong, Berson & Dryja, 2006). Es gibt verschiedene Formen der Retinitis Pigmentosa. Die häufigste Form ist die Stäbchen-Zapfen-Dystrophie, die als klassische Form der RP gesehen wird. Als inverse Retinitis Pigmentosa wird die Zapfen-Stäbchen-Dystrophie bezeichnet. Weitere Formen sind die sektorförmige Retinitis Pigmentosa, die Retinitis Pigmentosa sine pigmento, die unilaterale Retinitis Pigmentosa, Amaurosis congenita Leber und Retinitis punctata albescens. In einigen Fällen tritt RP in Verbindung mit weiteren Erkrankungen im Rahmen von Syndromen und Stoffwechselstörungen auf, die sich nicht nur auf die Augen beschränken. Dazu gehören mehr als 30 verschiedene Syndrome unter anderem das Usher-Syndrom. Beim Usher Syndrom besteht zusätzlich eine Schwerhörigkeit. Auf Grund der Tatsache, dass die Stäbchen-Zapfen-Dystrophie am weitesten verbreitet ist (Lang, 2004), wird hier auf die selteneren Formen nicht näher eingegangen.

Retinitis Pigmentosa weist einen sehr vielfältigen Verlauf auf. Bei einigen Patienten kommt es schon im Kindesalter zu typischen Sehverlusten. Wiederum andere bleiben bis ins mittlere Erwachsenenalter symptomfrei. Die typische Entwicklung der RP ist assoziiert mit Störungen des Dämmerungssehens, Blendungsempfindlichkeit und Nachtblindheit in der Jugend. Als junger Erwachsener kommt es dann zu Gesichtsfeldausfällen in der mittleren Peripherie. Beim Fortschreiten dieser Krankheit verlieren die Betroffenen zunehmend das periphere Sehen und es kann ein sogenannter Tunnelblick entstehen. Hinzu kommt eine Störung des Farbsinns. Im Alter von 60 Jahren geht meistens auch die zentrale Sehkraft verloren (Hartong, Berson & Dryja, 2006).

Wieso die Erkrankung gerade diesen Verlauf nimmt, wird klar, wenn man die Veränderungen in der Netzhaut genauer betrachtet und zwar in der Schicht der Photorezeptoren. Als erstes degenerieren die Stäbchen, die für das mesopische und skotopische Sehen, also das Dämmerungs- und Nachtsehen, verantwortlich sind. Diese sind hauptsächlich in den peri-

pheren Bereichen der Netzhaut vertreten. Somit wird verständlich, warum es zunächst zu Skotomen im äußeren Gesichtsfeld und zur Nachtblindheit kommt. Der Grund für die Degeneration der Stäbchen liegt darin, dass deren Scheibchen (Disks), die regelmäßig abgesondert werden, vom Pigmentepithel nicht mehr abgebaut werden können und sich als Abfallprodukt ablagern. Im fortgeschrittenen Stadium sind auch die Zapfen betroffen (s. Kapitel 2.1.1). Bei der Diagnosestellung reicht in vielen Fällen schon ein Blick auf den Augenhintergrund, denn bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa ist mit dem Ophthalmoskop ein typisches Fundusbild zu erkennen (s. Abbildung 2.12). Charakteristisch für die RP sind knochenkörperchenartige Proliferationen des retinalen Pigmentepithels und die sehr dünnen Gefäße. Außerdem ist durch die bestehende Optikusatrophie die Papille wachsgelb. Zudem kommt es des Öfteren zur verfrühten Entwicklung einer Katarakt. Meistens ist es eine Ausbildung eines hinteren Polstars (Reim, Kirchhof & Wolf, 2004). Des Weiteren weisen RP-Patienten häufig eine Myopie und einen Astigmatismus auf (Roberta & Pagon, 1988).



Abbildung 2.12: **Fundusveränderungen bei Retinitis Pigmentosa:** Charakteristisch für die RP sind knochenkörperchenartige Proliferationen des retinalen Pigmentepithels und die sehr dünnen Gefäße. Außerdem ist durch die bestehende Optikusatrophie die Papille wachsgelb (Lang, 2004).

Es gibt bei der Retinitis Pigmentosa bisher keine kausale Therapie. Man kann lediglich Begleiterscheinungen, wie eine Katarakt oder ein zystoides Makulaödem, behandeln. Es wurden zahlreiche Therapieansätze getestet, jedoch ohne den gewünschten Erfolg. Dazu zählt beispielsweise eine hochdosierte Vitamin-A-Supplementation. Die einzigen Hilfsmittel für RP-Patienten sind zur Zeit vergrößernde Sehhilfen und kontraststeigernde Filtergläser. Hoffnung bringen aber verschiedene Studien in denen z.B. Betroffenen vorübergehend Netzhautimplantate (Zrenner et al., 1999, Zrenner, 2002) eingesetzt werden. Diese Implantate befinden sich

allerdings noch in Forschung. Außerdem wird eine Gentherapie bei Mutationen im RPE65-Gen bei Menschen untersucht (Kellner & Wachtlin, 2008).

2.5.1 Ganzfeld-Elektroretinogramm bei Retinitis Pigmentosa

Bei Retinitis Pigmentosa ist häufig das Ganzfeld-ERG erkennbar reduziert, ehe klinische Anzeichen zu sehen sind. Zu Beginn der Erkrankung kann die Zapfenantwort noch registrierbar sein. Im dunkeladaptierten skotopischen Blitz-ERG sieht man ziemlich früh, dass die Stäbchenantwort beinahe „erloschen“ ist. Später ist auch die Zapfenantwort betroffen, bis sie unter der Nachweisgrenze liegt (Bach, 1996). Bei der Retinitis Pigmentosa ist neben der Amplitudenreduktion auch eine Verlängerung der Gipfelzeit der Potentiale zu beobachten (Alexandridis, 1997).

Die Retinitis Pigmentosa ist oft im ERG nicht von anderen Netzhautdystrophien wie der Choroideremie oder der Atrophia gyrata zu unterscheiden. Deshalb sind weitere Untersuchungen, wie z.B. die Ophthalmoskopie sowie eine Anamnese von großer Wichtigkeit. Liegt eine x-chromosomale Form der Retinitis Pigmentosa wie die XLRP vor, sind meist bei den Konduktorinnen Veränderungen im ERG zu finden (Rüther & Becker, 2008).

Patienten bei denen die Amplituden der Zapfenantwort im ERG bei 1 μV oder weniger liegen, können sich oft trotzdem im Raum orientieren und Zeitung lesen. Die meisten Menschen mit Amplituden von weniger als 0.05 μV sind gesetzlich blind oder nehmen nur Licht wahr (Hartong, Berson & Dryja, 2006).

Die Trennung der Stäbchen- und Zapfenantwort bei Patienten im frühen Stadium der Retinitis Pigmentosa kann dazu beitragen, progressive Formen von selbstbegrenzten Formen zu unterscheiden (Roberta & Pagon, 1988).

2.5.2 Multifokales ERG bei Retinitis Pigmentosa

Das multifokale ERG ist sehr hilfreich bei der Unterscheidung zwischen betroffenen und nicht betroffenen Netzhautstellen. Bei Retinitis Pigmentosa ist das multifokale ERG im frühen Stadium im peripheren Bereich verändert, die zentralen Antworten sind jedoch erhalten. Der typische mfERG Befund bei Patienten mit RP ist, dass die Amplitude verringert ist, vor allem in den peripheren Regionen, wo Gesichtsfeldbereiche am stärksten betroffen sind (Seeliger et al., 1998). Eine reduzierte Amplitude ist assoziiert mit Regionen deutlich reduzierter Gesichtsfeld-Empfindlichkeit. Es liegt nahe, dass Krankheiten, welche die äußeren Segmente der Rezeptoren zerstören, zu einer Abnahme in der Amplitude des mfERG führen werden. Doch neben der verringerten Amplitude, gibt es auch Verzögerungen der Gipfelzeit. Kleine

Antworten aus Regionen niedriger Empfindlichkeit haben längere Gipfelzeiten. Der Zeitpunkt dieser kleinen Antworten kann genau gemessen werden (Seeliger et al., 1998). Obwohl in den meisten Fällen Regionen geringer Empfindlichkeit mit kleinen, verzögerten mfERGs verbunden sind, ist die Amplitude nicht immer mit einem Sensibilitäts-Verlust bei Patienten mit RP gut korreliert. Es gibt einige Patienten, die relativ große mfERG Antworten in Regionen niedriger Gesichtsfeld-Empfindlichkeit haben. In solchen Fällen sind diese Antworten immer sehr verzögert, oft um mehr als 10 ms (Hood et al, 1998). Die mfERGs aus Regionen niedriger Gesichtsfeld-Empfindlichkeit sind relativ groß, aber sehr verzögert. Der Zeitpunkt der mfERGs scheint ein sehr sensibles Maß für die Gesundheit der äußeren Netzhaut zu sein (Hood, 2000). Die Blitz-ERG Antworten sind bei RP relativ früh nicht mehr nachweisbar. Durch das mfERG ist jedoch eine Möglichkeit gegeben, den Verlauf dieser Krankheit zu untersuchen (Rüther & Becker, 2008).

2.5.3 Muster-ERG bei Retinitis Pigmentosa

Die Ableitung eines Muster-ERGs ist eine objektive Methode, mit der die zelluläre Funktion in den inneren Schichten der Netzhaut abgeschätzt werden kann. Deshalb fällt die Entscheidung auf diese Methode, wenn die Funktionsfähigkeit der erhaltenen Ganglienzellen in der Makula bei RP angegeben werden soll. Einige Patienten mit Stäbchen-Zapfendystrophie haben ein fast nicht nachweisbares ERG, aber ein normales PERG. Ein abnormales Muster-ERG wurde bei RP-Patienten dann gefunden, wenn die Sehschärfe beeinträchtigt war (Holder, 2001). Das bedeutet, dass das Muster-ERG bei RP-Patienten, bei denen noch die Funktion des zentralen Gesichtsfeldes und der Sehschärfe besteht, relativ gut sein kann, obwohl das Blitz-ERG schon stark verändert ist (Alexandridis, 1997). Auch beim Muster-ERG machen sich die pathologischen Veränderungen bei RP in der Amplitudenreduktion bemerkbar. Die Studie von Janáky et al. zeigte, dass beide Amplituden, die P50 und die N95 Amplitude, bei RP-Patienten kleiner als bei der Kontrollgruppe waren. Die meisten der messbaren PERG-Ableitungen wiesen verzögerte Gipfelzeiten auf. Außerdem konnten sie bei keinem der Patienten ein normales PERG erfassen (Janáky et al., 2008).

2.5.4 Gesichtsfeld bei Retinitis Pigmentosa

Gesichtsfelder von RP-Patienten, die mit einem Goldmann-Perimeter oder einem Humphrey-Field-Analyzer gemessen wurden, zeigen in der Regel Skotome in der mittleren Peripherie. Diese werden über Jahre hinweg aufgrund des Verlusts der Stäbchen- und Zapfenfunktion größer. Im mittleren Stadium bis hin zur fortgeschrittenen Retinitis Pigmentosa bleiben nur

kleine Inseln des Sehvermögens in der Peripherie und im Gesichtsfeldzentrum bestehen. Später verschwinden langsam auch diese Bereiche des Sehens (Hartong, Berson & Dryja, 2006). Der Verlauf der Gesichtsfeldeinschränkungen sieht folgendermaßen aus. Das charakteristische Ringskotom in der mittleren Peripherie des Gesichtsfeldes entsteht in der Regel zunächst als eine Gruppe von isolierten Skotomen im Bereich von 20 bis 25 Grad vom Fixationspunkt entfernt. Diese isolierten Gesichtsfeldausfälle verschmelzen schrittweise zu Teilen eines Rings, bis sie dann einen kompletten Ring bilden. Der äußere Rand des Rings weitet sich ziemlich rasch Richtung Peripherie aus, während der innere Rand sich langsam in Richtung des zentralen Gesichtsfelds zusammenzieht. Nachdem das gesamte periphere Gesichtsfeld verschwunden ist, bleibt in den meisten Fällen ein kleiner Kreis des intakten zentralen Bereichs bestehen (Roberta & Pagon, 1988).

2.5.5 Fundusautofluoreszenz bei Retinitis Pigmentosa

Fundusautofluoreszenz-Bilder veranschaulichen, dass einige Patienten mit Retinitis Pigmentosa eine erhöhte Konzentration an Lipofuszin im retinalen Pigmentepithel aufweisen. Es lässt sich außerdem eine Korrelation zwischen der FAF und den multifokalen ERG Amplituden beobachten. Die Netzhautbereiche mit der stärksten Autofluoreszenz zeigen niedrige mfERG Antworten (Hartong, Berson & Dryja, 2006).

Bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa werden unterschiedliche Muster der abnormalen Autofluoreszenz beobachtet, die in den meisten Fällen eine hohe Symmetrie beider Augen aufweisen. In bestimmten Phasen der RP, wo es scheint, dass das retinale Pigmentepithelium durch den Verlust der Photorezeptoren einen höheren metabolischen Bedarf hat, wird die Akkumulation von Lipofuszin häufig in Form eines schmalen parafovealen Rings erhöhter Autofluoreszenz dargestellt. In Stadien und Regionen, in denen das RPE nicht mehr lebensfähig ist, ist die Autofluoreszenz reduziert oder fehlt völlig. Dies äußert sich in Form von dunklen Kreisflächen, meist in der Peripherie. Diese dunklen Kreise können aber auch in der fovealen Region beobachtet werden (Popovic, Jarc-Vidmar & Hawlina, 2005). Der Ring mit verstärkter Autofluoreszenz ist des Öfteren im Bereich von 4-5° von der Fovea entfernt zu erkennen. Bei manchen Formen der RP sind die Pigmentepithelzellen mit Lipofuszingranula überladen bzw. ist die Abgrenzung von Atrophien genau bestimmbar (Holz, 2001).

2.6 Themenverbundene Studienergebnisse

Zahlreiche Studien haben sich damit beschäftigt, die Anwendbarkeit des Muster-ERGs und des multifokalen ERGs bei RP zu untersuchen und die typischen Veränderungen bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa mit den jeweiligen Verfahren festzustellen. Seeliger et al. (1998) untersuchten das diagnostische Potential des multifokalen ERGs für die Beurteilung der Netzhaut-Erkrankung bei Retinitis Pigmentosa. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass das mfERG weitere Informationen bei der Diagnose von vielen Patienten mit Retinitis Pigmentosa geben kann, denn das multifokale Elektroretinogramm unterscheidet zwischen betroffenen und nicht betroffenen Netzhautstellen. Deshalb wurden exzentritätsabhängige Veränderungen in der Amplitude und der Gipfelzeit gefunden.

Hood et al. (1998) konnten ebenfalls zeigen, dass das mfERG im Rahmen einer fortgeschrittenen RP retinale Zapfendysfunktionen veranschaulichen kann und eine essentielle diagnostische Ergänzung ermöglicht.

Palmowski und Kollegen (2001) erkannten in ihrer Studie die Option, dass das mfERG zusätzlich zur Diagnostik auch zur Verlaufsdokumentation nutzbar ist. Außerdem sehen sie für die Zukunft im multifokalen ERG eine Hilfe, den klinischen Befund einer molekulargenetischen Form der Retinitis Pigmentosa gegebenenfalls besser zuordnen zu können.

Die Langzeitstudie von Nagy et al. (2008) verdeutlichte den großen Nutzen des multifokalen ERGs beim Einsatz zur Verlaufskontrolle bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa. Sie fanden heraus, dass die Amplitude der mfERG-Antwort einem ähnlichen exponentiellen Zerfall wie das Gesichtsfeld folgt. Des Weiteren können mit dem mfERG reproduzierbare Antworten gemessen werden, auch wenn das Ganzfeld-ERG fast erloschen ist.

In der Studie von Janáky et al. (2008) gelangte man zu der Erkenntnis, dass der eher geringe Prozentsatz der erfolgreichen Muster-ERG Ableitungen den Nutzen dieser Methode in der klinischen Verlaufskontrolle von RP-Patienten mindert.

Auch Hawlina et al. (1998) untersuchten die Muster-ERG Antworten bei RP-Patienten. Dabei wurden Muster-ERGs in verschiedenen Stadien der Krankheit abgeleitet, um festzustellen, ob PERG für die Verlaufskontrolle genutzt werden könnte, wenn die Blitz-ERG Antworten bereits fehlen. Ihre Ergebnisse bestanden darin, dass eine gute Sehschärfe essentiell für die Ableitung von Muster-ERGs bei RP-Patienten ist. Der Grund dafür ist, dass das PERG eine durch Kontrast generierte Netzhautantwort ist, welche die Aktivität der relativ erhaltenen inneren Netzhautschichten widerspiegeln könnte. Sie kamen im Gegensatz zu Janáky et al. zu dem Entschluss, dass das PERG ein nützliches elektrophysiologisches Hilfsmittel zur Überwachung der Netzhautfunktion bei RP-Patienten mit guter Sehschärfe sein kann, bei denen

das Blitz-ERG bereits „erloschen“ ist.

Das Muster-ERG und das multifokale ERG wurden zum ersten Mal in einer Studie von Neveu et al. (2006) bei Patienten mit altersbedingten Makuladegeneration (AMD) verglichen. Dabei kam eine starke Korrelation zwischen den Amplituden des mfERGs und des PERGs heraus. Neveu und Kollegen kamen ebenso zu dem Ergebnis, dass beide Verfahren eine objektive Methode zur Messung der zentralen Netzhautfunktion im Verlauf der AMD liefern. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass ein kombinierter Einsatz vom Muster-ERG und vom multifokalen ERG einige Vorteile gegenüber jedem einzelnen Test zu haben scheint.

3 Material und Methoden

Das Hauptexperiment beschäftigte sich mit dem Vergleich zwischen dem multifokalen ERG und dem Muster-ERG. Um die beiden Methoden besser vergleichen zu können, wurden weitere Untersuchungen durchgeführt. Das Projekt war in sieben verschiedene Untersuchungsteile gegliedert.

Bevor es jedoch zum Hauptexperiment kam, waren einige Vorversuche notwendig. Bei diesen Versuchen wurde an gesunden Probanden getestet, ob eine Korrelation zwischen den zu vergleichenden Messverfahren, dem Muster-ERG und dem multifokalen ERG, besteht.

3.1 Versuchsaufbau

3.1.1 Elektrodenposition

Bei allen elektrophysiologischen Untersuchungen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, kamen stets die selben Elektrodentypen zum Einsatz. Es wurden dabei zwei DTL-Fadenelektroden, zwei Napfelektroden und eine Klemmelektrode benutzt.

Elektrodentyp

Die Napf- und Klemmelektroden sind silberbeschichtete Hautelektroden, wobei die Napfelektroden als Referenzelektroden und die Klemmelektrode als Masseelektrode verwendet wurden. Zur Ableitung der retinalen Potentiale dienten die DTL-Elektroden. Der wichtigste Bestandteil dieser Elektroden ist ein Faden, der an einem Spannbogen aus Kunststoff fixiert ist. Dieser Faden besteht aus metallbedampften und leitfähigen Teppichfasern (s. Kapitel 2.2.1).

Die DTL-Elektrode musste vor jeder Untersuchung neu vorbereitet werden, konnte allerdings für alle drei elektrophysiologischen Methoden verwendet werden, da sie direkt nacheinander erfolgten. Bei der Vorbereitung wurde der gebogene Kunststoffstab in einer speziellen Haltevorrichtung (s. Abbildung 3.1) eingeklemmt, die als Hilfsmittel bei der Fadenfixation dient. Der DTL-Faden wurde nun mit einem kleinen Stück Isolierband an einem Ende des Spannbogens befestigt. Anschließend wurde der Faden ausgemessen, denn er muss eine Länge von

5,2 cm aufweisen, damit er am Auge nicht zu locker sitzt, aber auch nicht spannt. Danach wurde das andere Ende mit dem Faden umwickelt und mit einer kleinen Kappe fixiert und so isoliert. Eines der Bogenenden stellt eine Metallbuchse dar. Der DTL-Faden hat durch das Umwickeln direkten Kontakt zur Buchse und wurde mit einem Stecker zur Headbox verbunden. Der Faden wurde vor jeder Untersuchung auf Leitfähigkeit per Durchgangsprüfer akustisch kontrolliert. Um Keimfreiheit zu gewährleisten wurden die Fäden vorher mit einer UV-Lampe bestrahlt.

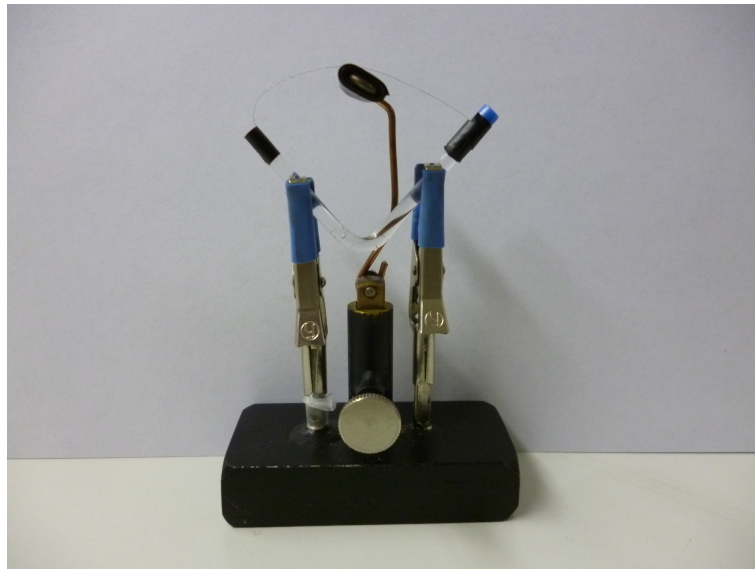


Abbildung 3.1: **DTL-Faden-Elektrode:** Der gebogene Kunststoffstab ist in einer Haltevorrichtung eingeklemmt. Die Haltevorrichtung dient als Hilfsmittel bei der Fadenfixation. Der DTL-Faden wird an beiden Enden des gebogenen Kunststoffstabs fixiert. Die Länge des Fadens muss 5,2 cm betragen.

Elektrodenanbringung

Vor dem Anbringen der Elektroden wurde an den Stellen, wo die Napfelektroden angelegt werden sollten, die Haut mit einer speziellen Peelingcreme gereinigt und angeraut. Die DTL-Fadenelektroden wurden so platziert, dass der Faden im Bereich der Lidkante der Unterlider zwischen der tarsalen und der bulbären Bindehaut verläuft und an den Lidwinkeln wieder hervortritt (s. Abbildung 3.2).

Der Kunststoffbogen wurde nasal und lateral mit Klebestreifen festgemacht. Außerdem konnte durch zusätzliches Fixieren der Kabel an den Schläfen und hinter dem Ohr mehr Halt geboten werden, damit kein Zug an den Fäden entstehen konnte. Die Hautelektroden wurden

mit Elektrodenhaftpaste prepariert und an den entsprechenden Stellen angelegt. Die Referenzelektroden wurden dabei an den Schläfen und die Klemmelektrode, die der Erdung dient, am Ohrläppchen positioniert. In Abbildung 3.3 ist die Elektrodenposition verdeutlicht.

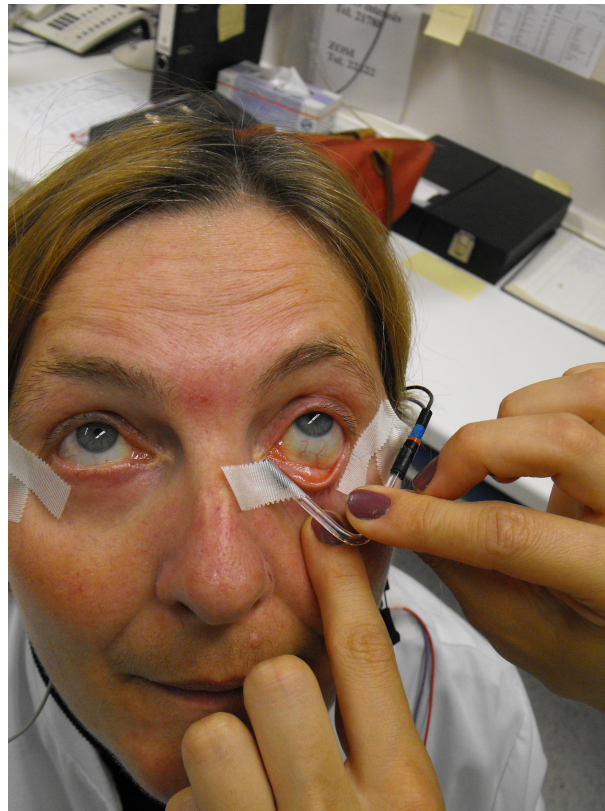


Abbildung 3.2: **Elektrodenanbringung:** Die DTL-Fadenelektroden werden so platziert, dass der Faden im Bereich der Lidkante der Unterlider zwischen der tarsalen und der bulbären Bindehaut verläuft und an den Lidwinkeln wieder hervortritt.

Elektrodenkontrolle

Zur Kontrolle über den Elektrodensitz wurde nach dem subjektiven Empfinden der Versuchspersonen gefragt, denn häufiges Blinzeln und angespannte Muskeln führen zu vermehrten Artefakten und Störungen bei den Messungen. Objektiv konnte der Sitz über die gemessenen Widerstände aller Kanäle beurteilt werden, die 10 kOhm nicht übersteigen sollten.

3.1.2 Aufklärung und Anleitung der Versuchspersonen

Die Versuchspersonen wurden vor den elektrophysiologischen Verfahren nochmals genau über den Ablauf unterrichtet und erhielten eine kleine Anweisung in ihre Aufgaben während der

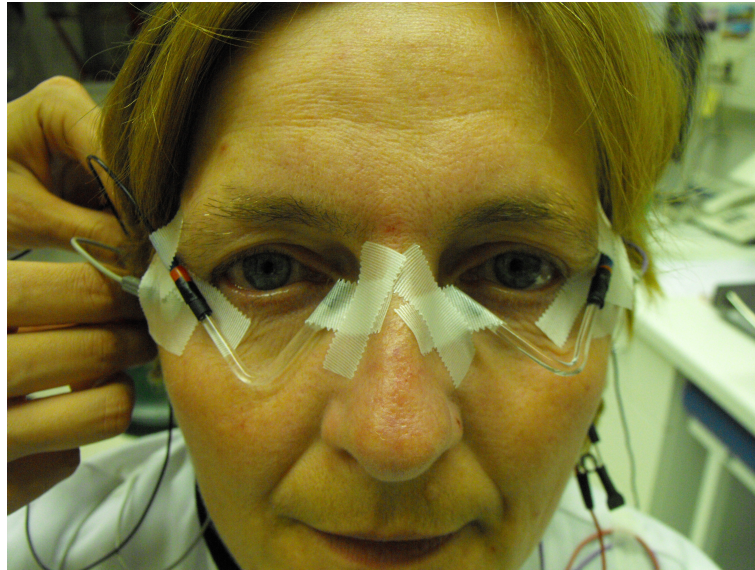


Abbildung 3.3: **Elektrodenposition:** Der Kunststoffbogen wird nasal und lateral mit Klebestreifen festgemacht. Außerdem kann durch zusätzliches Fixieren der Kabel an den Schläfen und hinter dem Ohr mehr Halt geboten werden, damit kein Zug an den Fäden entstehen kann. Die Hautelektroden werden mit Elektrodenhaftpaste prepariert und an den entsprechenden Stellen angelegt. Die Referenzelektroden werden dabei an den Schläfen und die Klemmelektrode, die der Erdung dient, am Ohrläppchen positioniert.

Versuche. Dabei wurde den Teilnehmern erklärt, dass sie im Laufe der Messungen eine entspannte Sitzposition einnehmen und auf eine Vermeidung von Kopf- und Körperbewegungen achten sollten. Der Grund hierfür ist, dass Augenbewegungen, häufiges Blinzeln und Zähne aufeinanderbeißen ein großer Störfaktor beim Messen ist. Die elektrischen Signale der Muskelbewegungen sind größer als die retinalen Potentiale und überlagern diese. Durch die entstehenden Artefakte muss entweder die Messdauer verlängert werden, da der Computer die Stellen der überlagerten Potentiale wiederholen muss, oder es ist eine komplette Wiederholung der Messung nötig. Dies hängt von der Messmethode ab. Deswegen wurde vor den Untersuchungen auf eine bequeme Kopf- und Körperhaltung durch geeignete Einstellung der Sitzhöhe sowie der Kinnstütze geachtet. Außerdem konnte durch die Kinnstütze für eine Einhaltung der Entfernung zum Bildschirm gesorgt werden. Die Probanden wurden zusätzlich angewiesen, die Kopfhöhe so zu wählen, dass sie den gesamten Monitor erkennen konnten. Zudem konnten die Versuchsteilnehmer jederzeit eine Erholungspause einlegen. Bei allen Messungen lag die Aufgabe der Patienten darin, die Mitte des Reizfeldes, die mit einem Fixationskreuz oder einem Fixationspunkt gekennzeichnet war, zu fokussieren.

3.2 Datenaufnahme

3.2.1 Ganzfeld-ERG

Ganzfeld

Während der Versuche wurden zwei verschiedene Ganzfeld-Geräte eingesetzt. Das neue Modell ist der Ganzfeld-Stimulator Q 450 SCX0 der Firma Ronald Consult Stasche & Finger GmbH. Anwendung findet es bei ERG, Blitz VEP und EOG Untersuchungen. Mit diesem Gerät können verschiedene Blitzintensitäten, Hintergrundhelligkeiten sowie Farben bei den Messungen eingestellt werden. Für Lichtreize bis $10 \text{ cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ werden Leuchtdioden eingesetzt. Bei höheren Intensitäten wird eine Xenon-Lampe verwendet. Zur Fixation dienen rote Leuchtdioden, die in der Intensität dem Hintergrund angepasst werden. Durch eine Video-Kamera hat der Untersucher die Möglichkeit, die Mitarbeit des Patienten zu beobachten.

Der Ganzfeld-Perimeter entspricht den ISCEV Standards. Die Breite der Kugel liegt bei 400 mm und die Höhe bei 540 mm. Die Kugel ist dabei 360 mm tief und hat einen Durchmesser von 400 mm. Blitz- und Hintergrundlicht werden mit weißen LED erzeugt.

Das andere Ganzfeld-Gerät ist ein Modell der Firma Nicolet mit der Bezeichnung Nicolet Compact Visual System. Dieses verfügt über keine Video-Kamera und ist allgemein nicht so modern ausgestattet, da es sich hierbei um ein älteres Modell handelt. Als Fixationspunkt wird auch bei diesem Gerät eine rote LED während der Untersuchung verwendet. Eine Xenon-Blitzröhre ist für die Erzeugung der Blitze in der Kugel verantwortlich. Glühlampen sorgen für die Hintergrundbeleuchtung im Ganzfeld. Die Intensität der Hintergrundbeleuchtung ist einstellbar, ebenso die Intensität und Frequenz des Blitzes.

Verstärker und Rechner

Für die beiden Ganzfeld-Geräte gab es jeweils getrennte Mess-Systeme. Das Ronald-System bestand aus dem Ganzfeld-Stimulator Q 450 SCX0, dem Rechner mit der Bezeichnung iMac Intel Core 2 Duo 2,66 GHz und dem DC/AC Verstärker der Firma Tönnies-Jäger. Das Nicolet-System umfasste das Ganzfeld Nicolet Compact Visual System, den Rechner Power Mac 7500/100 und den DC/AC Verstärker des Herstellers Tönnies-Jäger. Der Verstärkungsfaktor betrug beim Ronald-System 7500. Beim Nicolet-System hingegen wurde 5000 fach verstärkt. Es wurden mit Hilfe eines Tiefpassfilters bei beiden Mess-Systemen nur Potentiale unter 300 Hz aufgezeichnet. Ein Hochpassfilter sorgte beim Ronald-System dafür, dass im Skotopischen nur Signale über 0,3 Hz und im Photopischen über 0,1 Hz registriert wurden. Der Hochpassfilter des Nicolet-Systems ließ eine Aufzeichnung ab 1 Hz zu.

Messprogramm

Beim Nicolet Ganzfeld wurde sowohl das Messprogramm wie auch das Auswertungsprogramm von dem Laborleiter PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen im Programm IgorPro entwickelt. Die Ausarbeitung der Auswertungs- und Messprogramme des Ganzfeld Q 450 SCX0 erfolgten ebenfalls durch den Laborleiter, wobei das Auswertungsprogramm in IgorPro entwickelt wurde. Beim Messprogramm handelt es sich um eine eigene Programmentwicklung von PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen.

3.2.2 Multifokales ERG

Reizmonitor

Für die Generierung des mfERG wurde ein Apple[©] Power PC G3 300 MHz verwendet. Zur Abbildung des Reizmusters des mfERGs diente der Bildschirm FIMI[©]. Die Monitorbreite lag bei 38 cm und die Höhe bei 29 cm. Die Bildfrequenz war beim Reizmonitor auf 75 Hz eingestellt. Der Sehreiz wurde den Probanden in einem Augen-Monitor-Abstand von 40 cm präsentiert. Es wurden dabei 43° des zentralen Gesichtsfeldes vom Reizmuster ausgefüllt.

Verstärker und Rechner

Die abgeleiteten Potentiale des mfERGs liefen über einen Verstärker des Typs RA-200 der Firma Tomey Cooperation. Die Daten wurden um den Faktor 100.000 verstärkt. Bei den Messungen wurde ein Bandpassfilter im Bereich zwischen 10 und 300 Hz eingesetzt. Die Daten wurden mit Hilfe der Messkarte PCI 1200 des Herstellers National Instruments DAQ[©] digitalisiert. Sie wurden anschließend auf einem Apple[©] Rechner mit der Bezeichnung G3 gespeichert.

Messprogramm

Als Messprogramm wurde das von Erich E. Sutter entwickelte VERISTM Science 4.1d16 der Firma EDI Inc verwendet. Dieses diente ebenfalls zur Reizdarbietung. Für die ersten Auswertungsschritte kam das VERISTM zum Einsatz. Weitere Schritte, wie beispielsweise der Vergleich mit den Normwerten oder auch das „Time Varying Filtering“ (s. Kapitel 3.9.1), erfolgten im Programm IgorPro, wobei zusätzliche Programmierungen von Dr. rer. nat. Thomas Meigen nötig waren.

3.2.3 Muster-ERG

Reizmonitor

Bei der Muster-ERG Ableitung wurde zur Reizdarbietung ein Monitor der Firma Videoseven mit der Bezeichnung „N96DN“ verwendet. Dieser Reizmonitor weist eine Bildschirmdiagonale von 19 Zoll auf. Die Pixelanzahl liegt bei 640x480. Die Frequenz des Monitors mit der die Reizmuster gezeigt wurden, betrug 67 Hz. Die mittlere Leuchtdichte lag dabei stets bei 50 cd/m². Das Reizfeld hatte eine Breite von 36 cm und war 27 cm hoch. Somit wird das Verhältnis Breite zu Höhe von 4:3 gewährleistet, welches zur Standardempfehlung der ISCEV gehört. Auch der Mittelwert von Höhe und Breite des Reizfeldes liegt damit bei den empfohlenen 15° ($\pm 3^\circ$) (Holder et al., 2007). Bei allen Messungen wurde sichergestellt, dass zwischen Monitor und Augen ein Abstand von 57 cm gegeben war.

Verstärker und Rechner

Die Muster-ERG Potentiale wurden mit Hilfe eines DC/AC Verstärker des Herstellers Tönnies-Jäger amplifiziert, da die Signale sehr klein sind und sich im μV -Bereich befinden. Weil die Empfindlichkeit 40 $\mu\text{V}/\text{V}$ betrug, wurde mit einem Verstärkungsfaktor von 25000 verstärkt. Bei der Aufzeichnung sorgte ein Bandpassfilter dafür, dass nur Signale zwischen 1 und 100 Hz registriert wurden. Die ankommenden Daten wurden von einem Apple-Rechner des Typs „Power Macintosh 7500/100“ aufgenommen. Im Programm war ein Abtastintervall von 1,5 ms eingestellt. Die Digitalisierung der aufgezeichneten Daten erfolgte über die Messkarte ADC-board PCI-1200 der Firma National Instruments. Die Messkarte hatte eine Auflösung von 12 Bits.

Die Artefaktschwelle lag bei den Messungen bei $\pm 100 \mu\text{V}$. Wurde diese Schwelle durch Potentiale von Muskelbewegungen, wie beispielsweise Kau- und Augenbewegungen oder Lid-schlägen überschritten, kam es durch das Messprogramm zur Verwerfung der erfassten Daten und dieser Durchlauf wurde wiederholt. Ansonsten erfolgte eine Mittelung der gemessenen Signale. Diese Signale konnte der Untersucher auf einem weiteren Monitor verfolgen.

Messprogramm

Die Entwicklung, Realisierung und Überwachung der Mess- sowie Auswerteprogramme erfolgten durch PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen, den Leiter des elektrophysiologischen Labors der Universitäts-Augenklinik Würzburg.

3.3 Die Reizparameter

3.3.1 Ganzfeld-ERG

Beim Ganzfeld-ERG arbeitete man mit Blitzen steigender Intensität, die in einer Kugel erzeugt wurden. Da bei den Ganzfeld-ERG-Messungen zwei verschiedene Ganzfeld-Perimeter zum Einsatz kamen, werden hier die Parameter beider Geräte angegeben.

Tabelle 3.1: **Darstellung der Blitzintensitäten des Ganzfeld Q 450 SCX0 und des Nicolet Ganzfeld:** Blitzintensitäten (in $\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$) für die 8 bzw. 9 Blitze. Die Blitzintensitäten des Nicolet Ganzfeld wurden von Milli-Candela auf Candela umgerechnet. Aufgrund einer Empfehlung der ISCEV wird beim Ganzfeld Q 450 SCX0 mit einem zusätzlichen helleren Blitz stimuliert.

Blitz Nr.	Ganzfeld Q 450 SCX0	Nicolet Ganzfeld
1	0.001	0.001
2	0.003	0.00316
3	0.01	0.01
4	0.03	0.0316
5	0.1	0.1
6	0.3	0.316
7	1	1
8	3	3.162
9	10	

Nach einer halbstündigen Dunkeladaptation wurden beim Ganzfeld-Stimulator Q 450 SCX0 von Ronald Consult neun verschiedene Lichtreize dargeboten. Die Hintergrundleuchtdichte betrug bei den skotopischen Messungen stets $0 \text{ cd}/\text{m}^2$. Die steigenden Blitzintensitäten dieser neun Blitze sind in Tabelle 3.1 dargestellt. Nach einer 10-minütigen Helladaptation wurden im Photopischen zwei unterschiedliche Blitzreize erzeugt. Bei beiden Blitzen lag die Hintergrundleuchtdichte bei $30 \text{ cd}/\text{m}^2$. Die Blitzintensität war ebenfalls bei diesen zwei Blitzen gleich eingestellt und zwar auf $3 \text{ cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$, es wurde jedoch beim letzten Blitz mit einer Frequenz von 30 Hz stimuliert.

Beim Nicolet Ganzfeld entsprachen die Blitzintensitäten und die Hintergrundleuchtdichte der ersten acht Blitze von Milli-Candela auf Candela umgerechnet ungefähr den Einstellungen des Ganzfeld Q 450 SCX0 (s. Tabelle 3.1). Allerdings fehlte bei dem älteren Modell der neunte Blitz. Dieser Unterschied kommt dadurch zustande, weil die ISCEV für die neuen Geräte einen weiteren Blitz mit $10 \text{ cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ empfiehlt, was beim Nicolet noch nicht möglich war. Die Intensität der photopischen Blitze lag bei beiden Bedingungen bei $3.16 \text{ cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ und

die Hintergrundleuchtdichte bei 34.4 cd/m^2 . Die Frequenz des Flimmerblitzes war dabei auf 29.85 Hz eingestellt.

3.3.2 Multifokales ERG

Das Reizmuster des multifokalen ERGs bestand aus aneinander angrenzenden Sechsecken. Bei diesem Versuch wurde ein Muster aus 61 Hexagonen verwendet. Diese Sechsecke wechselten in einer festgelegten Reihenfolge (der m-Sequenz) ihre Leuchtdichte, sodass die schwarzen Felder weiß und die weißen Felder schwarz wurden. Dabei bestand für jedes Sechseck eine 50% Chance, erleuchtet zu werden, sobald das Muster wechselte. Bei diesem Muster waren aufgrund der unterschiedlichen Zapfendichte in der Netzhaut die Sechsecke im Zentrum kleiner als die peripheren Hexagone.

Das Reizmuster wies vom Fixationszentrum aus in beide Seiten eine Größe von $21,5^\circ$ auf. Das schwarze Fixationskreuz hatte bei allen Messungen eine Größe von 2° und eine Dicke von 15° . Die durchschnittliche Leuchtdichte der weißen Felder betrug während des Versuchs ca. 352 cd/m^2 . Die Helligkeit der schwarzen Karos lag bei ca. 0 cd/m^2 . Somit war die mittlere Leuchtdichte bei 176 cd/m^2 . Der Michelson-Kontrast betrug 100%.

3.3.3 Muster-ERG

Beim Muster-ERG wurde zur Stimulation das Invertieren eines Schachbrettmusters genutzt. Als Basiselement dieses Schachbrettmusterreizes dienten zwei verschiedene Karomuster, die sich in der Größe der Karos unterschieden. Ein Karomuster bestand aus Karos der Größe 18° und beim anderen Karomuster waren die Felder $0,8^\circ$ groß. Dadurch, dass beim Versuch zusätzlich zu den unterschiedlichen Karogrößen eine transiente und eine steady-state Messung durchgeführt wurde, ist mit insgesamt vier Reizmustern gearbeitet worden.

Bei Reiz Nr.1 wurde das große Karomuster präsentiert. Dabei hatte ein Karo eine Größe von 18° . Ein Durchlauf beinhaltete bei diesem Reiz zwei Sequenzen. Da es sich hierbei um einen transienten Reiz handelte, wurde das große Karomuster 20 Bilder lang gezeigt bis es in der zweiten Sequenz 20 Bilder lang umgekehrt präsentiert wurde. Die Monitorfrequenz lag bei 66,6 Hz, deshalb betrug die Darbietungszeit des Monitorbildes 15 ms. Jede Sequenz hatte demnach eine Periodendauer von 300 ms. Dies entspricht einer Musterwechselfrequenz von 3,33 Hz. Der erste Reiz wurde 15 Mal pro Zyklus wiederholt.

Bei Reiz Nr.2 erfolgte das große Karomuster in einem steady-state-Regime. Ein Durchlauf bestand aus zwei Sequenzen, die jeweils eine 6-malige Wiederholung hatten. Beide Sequenzen dauerten jeweils 60 ms und wiesen damit eine Musterwechselfrequenz von 16,6 Hz auf.

Dieser Reiz wurde 10 Mal pro Zyklus hintereinander gezeigt.

Reiz Nr.3 wies ein Karomuster mit kleinen Karos von $0,8^\circ$ auf. Ein Durchlauf wurde bei diesem Reiz durch zwei Sequenzen definiert. Dieser Musterreiz hatte eine transiente Musterumkehr, sodass pro Sequenz wieder eine Periodendauer von 300 ms erfolgte. Somit wechselte das Muster mit einer Frequenz von 3,33 Hz. Der dritte Reiz hatte 15 Durchläufe pro Zyklus.

Reiz Nr.4 wurde mit kleinen Karos im steady-state-Regime stimuliert. Bei diesem Reiz umfasste ein Durchlauf wieder zwei Sequenzen mit jeweils sechs Wiederholungen. Beide Sequenzen wurden 4 Bilder lang präsentiert, sodass wieder eine Musterwechselfrequenz von 16,6 Hz entstand. Zudem beinhaltete dieser Reiz 10 Durchläufe pro Zyklus.

Der Zyklus dieser vier Reize lief insgesamt 5 Mal durch. Des Weiteren wurde bei allen Reizen vor den Durchläufen ein Vorlauf eingeschoben, der nicht in die Ableitung mit einging. Dieser Vorlauf diente dazu, dass sich beim Probanden ein Adaptationszustand einstellte.

Die abwechselnde Darbietung der einzelnen Reize hingte damit zusammen, dass für alle Reizbedingungen die gleichen Voraussetzungen vorliegen sollten. Somit hatte die Ermüdung des Probanden kaum einen Einfluss auf das Messergebnis. Zudem konnte durch die Abwechslung der Reize einer schnellen Ermüdung vorgebeugt werden.

3.4 Versuchsablauf

3.4.1 Muster-ERG

Als erste Untersuchung erfolgte das Muster-ERG, da bei dieser Methode eine spielende Pupille wichtig ist. Nach der Muster-ERG Messung wurden die Elektroden, wie in Kapitel 3.2.1 beschrieben, angebracht. Anschließend wurde der Pupillendurchmesser gemessen und notiert. Dieser betrug bei den Probanden durchschnittlich 3 mm. Außerdem war es wichtig, den Bildschirmkontrast vor jeder Messung zu überprüfen. Nachdem die Versuchsperson eine bequeme Sitzposition eingenommen hatte, wurde der Augen-Monitor-Abstand auf 57 cm eingestellt. Die Entfernung wurde mehrmals überprüft, um einen exakten Abstand sicherzustellen. Danach wurde der Nahvisus der Teilnehmenden mit einer Sehprobentafel mit Landolt-Ringen für jedes Auge getrennt geprüft und gegebenenfalls eine Nahkorrektur der Fehlsichtigkeit vorgenommen.

Die Messung des Muster-ERGs wurde unter heller Umgebungsbeleuchtung durchgeführt. Beim Muster-ERG erfolgte eine Doppelbestimmung der Ableitungen. Die doppelte Bestimmung diente der Prüfung der Reproduzierbarkeit. Die beiden Messungen konnten anschließend gemittelt werden. Zwischen den Aufnahmen konnte sich der Proband erholen. Es war jedoch

ebenso während der Messung möglich, die Untersuchung zu unterbrechen, falls eine Pause gewünscht war. Die Versuchspersonen fixierten während der Untersuchung stets ein blaues Kreuz im Zentrum des Reizmonitors. Im Falle von Fixationsschwierigkeiten konnte die Größe des Fixationskreuzes verändert werden. Mit Hilfe von gelben Dreiecken, die links bzw. rechts vom Kreuz auftauchten, konnte die Fixation zusätzlich geprüft werden, da die Versuchsteilnehmer mit einem Joystick signalisieren mussten, auf welcher Seite sie dieses Dreieck gesehen haben. Insgesamt dauerte die Messung des Muster-ERGs ungefähr 45 Minuten, wenn man das Anlegen der Elektroden mitberechnet.

3.4.2 Multifokales ERG

Für das multifokale ERG war es nötig, die Pupillen weitzustellen. Nach dem Weitstellen wurde die Wirkung des Mydriatikums zunächst einmal abgewartet, bevor gemessen werden konnte. Der Pupillendurchmesser sollte zumindest bei 6 mm liegen, wobei im Durchschnitt 7 mm erreicht wurden. Da bei dieser Untersuchung die selben Elektrodentypen verwendet wurden, konnten die bereits beim Muster-ERG angelegten Elektroden beibehalten werden. Auch hier wurde vorab getestet, ob eine Nahkorrektur erforderlich ist. Der Abstand vom Monitor zum Auge betrug 40 cm. Zu den Vorbereitungen gehörte ebenfalls die Kontrolle der Helligkeit und des Kontrastes des Reizmonitors. Beim multifokalen ERG wurde genauso darauf geachtet, dass der Patient eine komfortable Position beim Sitzen eingenommen hat. Die Untersuchung wurde in 16 Teilabschnitte unterteilt, von denen jeder ca. 13 Sekunden dauerte. Zwischen den einzelnen Segmenten hatte der Proband eine kleine Pause, um die Augen ausruhen lassen zu können. Während der Aufnahme eines Segments sollte jeder Lidschlag bzw. jede mimische Bewegung vermieden werden. Jeder Abschnitt konnte jedoch wiederholt werden, falls die Messung nicht zufriedenstellend war. Es wurde nach einer etwas längeren Pause eine Wiederholung der 16 Segmente für die Reproduzierbarkeit vorgenommen. Als Fixationshilfe diente ein schwarzes Kreuz, bei dem die Größe angepasst werden konnte. Die Untersuchung dauerte mit Weitstellung der Pupillen ca. eine halbe Stunde.

3.4.3 Ganzfeld-ERG

Die Elektroden von den beiden vorausgehenden Methoden konnten auch für das Blitz- und das Flimmer-ERG genutzt werden. Die Weitstellung der Pupillen hielt eine Weile an, sodass nicht nochmals ein Mydriatikum getropft werden musste. Für diese Untersuchung musste jeder Patient 30 Minuten dunkeladaptieren.

Während der Untersuchung musste der Patient im Ganzfeld einen roten Punkt fokussieren.

Dabei wurden gleichzeitig über das Ganzfeld Lichtreize steigender Helligkeit verwendet. Nach acht Lichtblitzen erfolgte eine zehnminütige Helladaptation. Danach setzte man einen hellen Blitz ein, der anschließend wiederholt wurde und daraufhin einen Flimmerreiz mit einer Frequenz von 30 Hz. Mit Berücksichtigung der Dauer für die Dunkel- sowie Helladaptation nahm die Ableitung eines ERGs ca. 55 Minuten in Anspruch.

3.5 Perimetrie

3.5.1 Versuchsaufbau/-anordnung

Für die Gesichtsfelduntersuchung wurde das Goldmann Perimeter 940 der Firma HAAG-STREIT AG verwendet. Das Goldmann Perimeter 940 ist ein Projektionsperimeter. Dieses ist schalenförmig aufgebaut mit einem Durchmesser von 30 cm. Mit dem Goldmann Perimeter lässt sich die Testmarkenposition direkt registrieren.

Die Schale des Perimeters ist gleichmäßig und konstant ausgeleuchtet, somit ist bei jeder Gesichtsfelduntersuchung stets der gleiche Adaptationszustand des ganzen Auges gewährleistet. Die Testmarke kann mit Blenden in 6 verschiedenen Größen und mit Graufiltern in 4 oder mehr Helligkeitsstufen verändert werden. Die Einstellung der Leuchtdichte der Schale wird mit einer Schiebelblende ermöglicht. Diese liegt normalerweise bei 31,5 asb. Die Helligkeit der Testmarke wird mit dem Luxmeter und dem Widerstand eingestellt und befindet sich auf 1000 asb. Die Fixation des Patienten lässt sich während der Untersuchung mit einem Fernrohr durch den Untersucher kontrollieren. Die Untersuchungsdistanz liegt bei 30 cm. Auf diese Entfernung muss auch die Fehlsichtigkeit des Patienten korrigiert werden. Aus diesem Grund ist ein Halter für Korrekturgläser vorhanden.

3.5.2 Versuchsablauf/Datenaufnahme

Bei der Gesichtsfelduntersuchung wurde zunächst einmal darauf geachtet, dass die Refraktionsanomalien des Patienten in der Entfernung von 30 cm bestmöglich korrigiert sind. Solange der Patient am beleuchteten Perimeter 2 bis 3 Minuten voradaptierte, wurde der Kopfhalter eingestellt und das nicht untersuchte Auge mit einer Augenklappe abgedeckt. Der Untersucher musste dafür sorgen, dass der Patient bequem saß und war für die Eichung des Perimeters vor der Messung zuständig. Außerdem war die genaue Erklärung des Untersuchungsablaufs wichtig, da der Patient währenddessen stets gut fixieren und den Knopf bei Erkennen eines Lichtpunktes betätigen musste. Der Pupillendurchmesser wurde vor Beginn notiert. Der Untersucher beobachtete durch das Fernrohr ständig die Fixation des Patienten.

Normalerweise beginnt man die Gesichtsfeldmessung mit der Reizmarke Größe I und der Intensität 4. Bei Feststellung einer Einengung der Isoptere, wurde die Reizmarke vergrößert. Die Testmarke wurde aus der Peripherie in Richtung Zentrum geführt, wobei der Untersucher auf eine konstante Geschwindigkeit achten musste. Die Reizschwelle wurde ca. alle 30-45° eingetragen. Nach der Untersuchung wurden die auf dem Schema notierten Punkte zu Isopteren miteinander verbunden. Anschließend wurde das zweite Auge mit der selben Vorgehensweise untersucht. Die Prüfung des Gesichtsfeldes dauerte je Auge bis zu 15 Minuten.

3.6 Autofluoreszenz

3.6.1 Versuchsaufbau/-anordnung

Für die Fundusautofluoreszenz wurde mit einem konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop gearbeitet. Dabei kam der Heidelberg Retina Angiograph (HRA) des Herstellers Heidelberg Engineering zum Einsatz. Bei der Fundusautofluoreszenz wird zur Erregung ein Argon-Blau-Laser mit der Wellenlänge 488 nm verwendet. Ein spezieller Filter sorgt dafür, dass nur emittiertes Licht über 500 nm registriert wird. Der Patient wird dabei mit einer maximalen Lichtbelastung von ca. 2 mW/cm² über eine Fläche von 10x10° konfrontiert. Dies liegt klar unter der erlaubten Grenze der internationalen Standards.

Die aufgenommenen Bilder werden nach der Digitalisierung auf dem Computermonitor veranschaulicht. Mit dem „frame grabber“ ist eine Digitalisierung der Bilder mit einer programmierbaren Rate von bis zu 20 Bildern pro Sekunde möglich. In jedem Bildausschnitt sind vertikal sowie horizontal 512 Pixel enthalten. Mit diesem Gerät besteht die Option sowohl einzelne Bilder als auch mehrere Aufnahmen einer Serie nach automatischer Alignierung zu machen. Die Bilder werden nach dem Alignieren gemittelt, um Augenbewegungen zu kompensieren (Holz, 2001).

3.6.2 Versuchsablauf/Datenaufnahme

Für die Fundusautofluoreszenz war es zunächst wichtig, dass die Pupillen erweitert sind. Den Patienten wurden im nächsten Schritt Anweisungen zur Untersuchung gegeben. Auch hier war es für die Aufnahme der Bilder essentiell, dass die Teilnehmenden eine entspannte Sitzposition vor dem Gerät einnahmen. Außerdem sollten Kopf- und Augenbewegungen möglichst vermieden werden, da mehrere Bilder hintereinander erstellt wurden und die Bewegungen ansonsten zur Unschärfe der Aufnahmen beitragen könnten.

Bevor die Bilder aufgenommen werden konnten, musste in den „Infrarot“-Modus gewechselt

werden. Mit diesem Modus konnte das Netzhautbild fokussiert werden. Dafür diente als Hilfe die vorgeschaltete Optik. Anschließend wurde in den „Fluoreszein-Angiographie“-Modus geschaltet und die Empfindlichkeit der Kamera manuell eingestellt. Dies war wichtig, damit Netzhautstrukturen, wie z.B. Gefäße, sichtbar werden. Sobald alle Einstellungen erfolgt waren, wurden im Serienmodus mehrere Autofluoreszenz-Aufnahmen gemacht. Aufgrund der schwachen Fundusautofluoreszenz durch Lipofuszin erfolgte im Anschluss aus den ausgesuchten digitalen Einzelbildern eine Errechnung eines Mittelbilds für eine genügende Fluoreszenzintensität. Dies geschah mit Hilfe entsprechender Software (Heidelberg Eye Explorer) automatisch nach der Alignierung (Dithmar & Holz, 2008). Je nach Mitarbeit des Patienten dauerte die Untersuchung lediglich ca. 10 Minuten.

3.7 Vorversuch

Um das multifokale ERG mit dem Muster-ERG bei RP-Patienten vergleichen zu können, musste zunächst einmal untersucht werden, ob die beiden Methoden miteinander korrelieren. Das heißt, es musste herausgefunden werden, ob bei beiden dieser elektrophysiologischen Verfahren bei Normalpersonen gute Messwerte resultieren. Wenn bei einer Person beim multifokalen ERG große Amplituden gemessen werden, dann müssten beim Muster-ERG ebenfalls hohe Amplitudenwerte vorhanden sein und umgekehrt genauso. Durch die nicht reizabhängigen Eigenschaften des Auges müssten nämlich bei beiden Methoden die gleichen Voraussetzungen herrschen. Diese Eigenschaften betreffen beispielsweise die Fließeigenschaften der Ströme durch die Hornhaut oder den Glaskörper.

Für die Messungen des Vorversuchs wurden Untersuchungen mit dem mfERG und dem PERG vorgenommen. Für das Vorexperiment wurden neun Probanden untersucht. Es haben bei den Versuchen fünf Frauen und vier Männer teilgenommen. Sie waren zum Zeitpunkt der Experimente zwischen 22 und 57 Jahre alt. Das Durchschnittsalter lag bei 30 Jahren. Die Ausschlusskriterien für die Teilnahme am Vorversuch waren das Vorliegen einer Augenerkrankung, Epilepsie sowie Allergien gegen Mydriatika und Pflaster. Außerdem sollte zumindest ein Nahvisus von 1,0 erreicht werden, der von allen Probanden erzielt wurde. Bestehende Ametropien wurden vor den Untersuchungen entsprechend ausgeglichen. Für den Vorversuch wurde bei jedem Patienten für das mfERG nur ein Auge weitgestellt.

Beim Vorversuch wurden bei allen Messungen die gleichen Reizmuster und Geräte, wie beim Hauptexperiment verwendet. Der Unterschied bestand in den Versuchspersonen sowie in der Tatsache, dass beim Vorexperiment nur mit dem multifokalem ERG und dem Muster-ERG gemessen wurde und die weiteren Untersuchungen nicht nötig waren. Ein wesentlicher Un-

terschied zwischen dem Vorversuch und dem Hauptexperiment war bei den DTL-Elektroden gegeben (s. Abbildung 3.4). Es wurde zwar der DTL-Faden benutzt, dieser wurde jedoch mit einer anderen Methode angebracht. Bei dieser Methode kam nur der gerade Teil des gebogenen Kunststoffstabs zum Einsatz. Mit dem DTL-Faden wurde die Seite, die eine Metallbuchse darstellt, umwickelt und mit der kleinen Kappe fixiert. Der DTL-Faden wurde entlang des Kunststoffstabs mit dem Isolierband befestigt, sodass der Faden am anderen Ende gerade weiter verlief. An dieser Stelle wurde ein Pflaster umgelegt. Das freie Ende des Fadens wurde an einem kleinen Stück Isolierband geklebt, damit man beim Anbringen der Elektrode den Faden nicht berühren muss. Der Faden musste nicht ausgemessen werden, da man die Länge beim Anbringen individuell bestimmen und an jedes Auge anpassen konnte. Die Elektrode wurde so platziert, dass der Kunststoffstab an der Schläfe mit Pflastern befestigt wurde. Der Faden verlief im Bereich der Lidkante der Unterlider zwischen der tarsalen und der bulbären Bindehaut und kam an den Lidwinkeln wieder hervor, wo er mit Klebestreifen fixiert wurde. Auch wenn diese Art der Elektrodenanbringung mehr Individualität bei der Fadenlänge bietet, fiel die Entscheidung beim Hauptexperiment jedoch auf die Methode, die ansonsten immer im Labor verwendet wird (s. Kapitel 3.1.1).

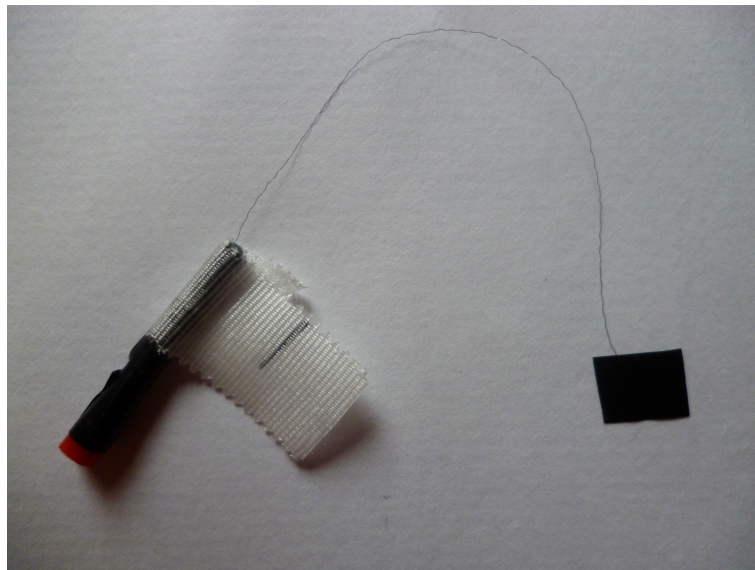


Abbildung 3.4: **DTL-Faden-Elektrode beim Vorversuch:** Statt einem gebogenen Kunststoffstab an dem der DTL-Faden befestigt wird, wurde beim Vorversuch nur der gerade Teil des Kunststoffstabs verwendet. Der Faden wird nur an einem Ende des Stabs fixiert. Dadurch kann die Länge des Fadens beim Anbringen der Elektrode an das Auge individuell angepasst werden.

3.8 Hauptexperiment

Das Hauptexperiment bestand hauptsächlich aus den drei elektrophysiologischen Messmethoden, dem Ganzfeld-ERG, dem mfERG sowie dem PERG, wobei der Vergleich zwischen dem multifokalen ERG und dem Muster-ERG den Hauptteil des Experiments darstellte. Die Ableitung des Blitz-ERGs diente lediglich zur Sicherung der Diagnose des Krankheitsbildes der Retinitis Pigmentosa.

Nachdem die Patienten über die Studie aufgeklärt wurden und eine Anamnese stattgefunden hatte, wurde zunächst die Fehlsichtigkeit mit dem objektiven Refraktometer geprüft und anschließend der Fernvisus gemessen. Refraktionsfehler wurden für die Versuche mit einer Messbrille oder mit eigener Brille korrigiert. Auch eine Gesichtsfeldmessung erfolgte bei jedem Patienten. Diese wurde von Mitarbeitern der Universitätsaugenklinik Würzburg mit dem Goldmann-Perimeter durchgeführt. Danach folgten drei wichtige Untersuchungsmethoden: das Ganzfeld-ERG, das mfERG sowie das PERG, die alle im Elektrophysiologie-Labor stattfanden. Im Anschluss wurde die Fundusautofluoreszenz im Fotolabor von einer Mitarbeiterin ausgeführt. Die letzte Station, zu der die Patienten begleitet wurden, war der Besuch beim Arzt. Dabei wurden die vorderen Augenabschnitte sowie der Fundus untersucht. Die Patienten konnten ebenso alle ihre Krankheit betreffenden Fragen klären. Pro Patient nahm die Versuchsdurchführung mit Pausen insgesamt ca. 5-6 Stunden in Anspruch.

Versuchspersonen

Beim Hauptexperiment haben an der Studie insgesamt 14 Versuchspersonen teilgenommen. Darunter waren acht Männer und sechs Frauen. Die Probanden waren zum Zeitpunkt der Messungen zwischen 19 und 69 Jahre alt. Das durchschnittliche Alter befand sich bei 46 Jahren. Bei allen Testpersonen wurden bei den verschiedenen Versuchsreihen beide Augen untersucht.

Die Bedingung für die Teilnahme an der Studie war die Diagnose einer bestehenden Retinitis Pigmentosa. Es wurde aber nicht zwischen den RP-Formen unterschieden. Bei zwei der Patienten bestand die RP-Erkrankung im Rahmen eines Usher-Syndroms. Zwei andere Versuchspersonen wiesen zusätzlich einen Nystagmus auf, was die Fixation bei den Tests mehr oder weniger erschwerte. Außerdem war es sehr wichtig, dass bei den Probanden keine Allergien gegen pupillenerweiternde Augentropfen sowie Pflaster vorlagen. Ein weiteres Ausschlusskriterium war das Leiden an Epilepsie. Es wurde ebenso vorausgesetzt, dass der Untersuchte die Fixiermarken bei allen Messungen erkennen konnte. Bei einigen Patienten

musste die Größe der Fixierkreuze wegen eines niedrigen Visuswertes angepasst werden. Ansonsten war eine bestimmte Sehschärfe zunächst kein Kriterium.

Die RP-Patienten wurden überwiegend über die Low Vision Abteilung der Augenklinik für die vorliegende Studie rekrutiert. Die Patienten werden meistens dorthin verwiesen, um sie über Möglichkeiten, die das Sehen bei Retinitis Pigmentosa verbessern können, aufzuklären. Patienten, die für die vorliegende Arbeit in Frage kamen, wurden telefonisch kontaktiert. Sie wurden dabei über die Studie informiert und befragt, ob Interesse an einer Teilnahme bei dieser Studie vorliegt. Geplant war darüber hinaus eine Zusammenarbeit mit dem Blindenbund und mit der Vereinigung Pro Retina. Es konnten über den Blindenbund und über Pro Retina jedoch keine geeigneten Patienten für die Studie gewonnen werden, da bei den meisten Betroffenen die Erkrankung zu weit fortgeschritten war und bei ihnen lediglich Lichtschein als Visus angegeben werden konnte.

Vor Beginn der Untersuchungen wurden alle Probanden mit einem Informationsblatt (s. Abbildung 6.14 und 6.15) und einem ausführlichen Gespräch gemäß den Grundsätzen der internationalen Deklaration von Helsinki über Sinn und Ablauf der Studie in Kenntnis gesetzt. Sie stimmten einer freiwilligen Teilnahme an den Experimenten mit einer Unterschrift zu. Ihnen war bewusst, dass sie die Messungen stets ohne Angabe von Gründen unter- oder abbrechen konnten.

3.9 Datenanalyse

3.9.1 Auswertung

Ganzfeld-ERG

Die Messungen der Versuchspersonen wurden nach der Untersuchung im Messprogramm exportiert und in das Auswerteprogramm importiert. Ausgewertet wurden die Daten manuell. Bei der kombinierten skotopischen Antwort wurde die Amplitude der a-Welle von der Grundlinie bis zum Minimum der a-Welle gemessen. Die Amplitude der b-Welle wurde vom negativen Tal der a-Welle bis zum positiven Gipfel der b-Welle bestimmt. Die Gipfelzeiten wurden vom Zeitpunkt des Blitzes bis zum angemessenen Gipfel bzw. Tal festgelegt.

Bei der Auswertung des Flimmer-ERGs konnte man die Amplituden als Differenz vom Minimum zum Maximum messen. Mit Hilfe der Fourieranalyse wurde automatisch über mehrere Höhepunkte gemittelt. Dabei wurde das ausgewertete Areal auf einen Abschnitt ohne Augenbewegungsüberlagerung begrenzt. Die Auswertung der Ganzfeld-ERG Messungen erfolgte nach den Standards der ISCEV (Marmor et al., 2008).

Multifokales ERG

Die aufgezeichneten Daten wurden im Messprogramm VERISTM gemittelt, gespeichert und exportiert. Anschließend wurden die Messwerte in IgorPro importiert. Die weitere Auswertung fand in IgorPro statt. Die typische Kurvenform einer Standard-mfERGs Antwort besteht aus drei Gipfeln, einer negativen Auslenkung gefolgt von einem positiven Gipfel. Normalerweise gibt es nach der positiven Komponente noch ein weiteres Tal. Diese drei Gipfel werden als N1, P1 und N2 bezeichnet.

Um die Daten statistisch weiter verwerten zu können, erfolgte eine Summation der 61 Originalantworten jedes Probanden zu einer einzigen Kurve. Der Grund hierfür waren die oft nur noch sehr kleinen Antworten der Patienten, die sich kaum vom Rauschen hervorhoben. Als Folge der sehr niedrigen und „verrauschten“ Amplituden in den Ergebnissen der elektrophysiologischen Messungen, wurde darüber hinaus die Methode des „Time Varying Filtering“ (Meigen & Heine, 2001) angewandt. Dieses Verfahren kommt im klinischen Alltag normalerweise nur selten zum Einsatz. Damit die geringen Amplituden jedoch vom Rauschen differenziert werden konnten, wurden die Kurven zusätzlich durch das Time Varying Filtering geglättet (s. Abbildung 3.5). Das Time Varying Filtering ist eine Methode mit der eine Abschätzung des im Rauschen „verborgenen“ Signals einer elektrophysiologischen Antwort möglich ist.

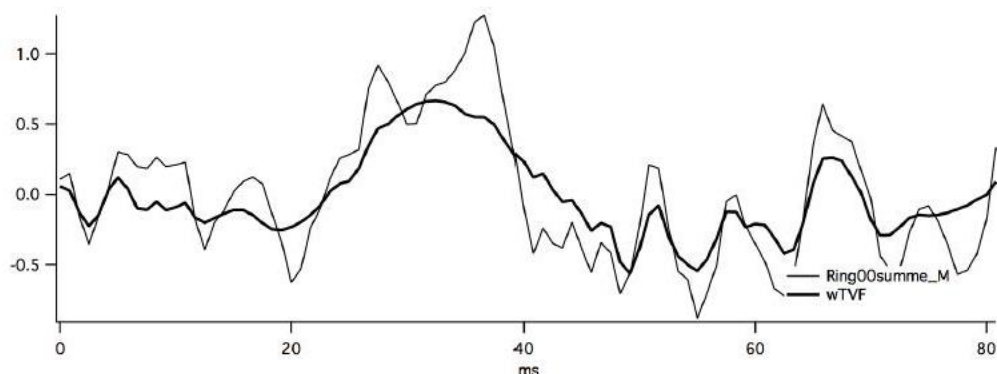


Abbildung 3.5: **Veranschaulichung der Time Varying Filtering Methode:** Hier ist die mfERG-Kurve nach einer Summation der 61 Originalkurven dargestellt. Die dünne Linie zeigt die Kurve ohne die Anwendung des Time Varying Filtering. Die dicke Linie verdeutlicht, wie stark die verrauschte Kurve durch den Einsatz des Time Varying Filtering geglättet wird. Damit können die geringen Amplituden vom Rauschen differenziert werden.

Beim Time Varying Filtering erfolgt eine Subtraktion von Bestandteilen ähnlicher Größe wie die Rauschantwort. Dafür werden Signal und Rauschen durch das Time Varying Filtering in verschiedenen Zeitfrequenzbereichen verglichen. Nach der zeitabhängigen Filterung werden

die Signale aller Frequenzbereiche, die vom Rauschen bereinigt wurden, wieder zusammengezählt.

Muster-ERG

Nach der Untersuchung wurden die beiden Messungen jedes Probanden im Messprogramm exportiert und in das Auswerteprogramm importiert, wo sie zunächst gemittelt wurden. Außerdem erfolgte mit Hilfe der Fourier-Analyse eine Reinigung der Kurven von Signalen über 50 Hz, um so z.B. Netzbrummen herauszufiltern. Anschließend konnten durch das Glätten der Kurven die Gipfel für das transiente Muster-ERG, also für N35, P50 und N95 automatisch gesetzt werden. Die Latenzen und Amplituden konnten jedoch nachträglich auch manuell festgelegt oder verändert werden. Die Latenzzeit wurde von Beginn des Musterwechsels bis zum Gipfel der betreffenden Komponente gemessen. Für die Bestimmung der Amplitudenwerte wurde die Differenz zwischen N35 und P50 sowie zwischen P50 und N95 ermittelt.

Für die Auswertung der steady-state Messungen wurde die Methode nach Meigen und Bach genutzt. Diese Methode ermöglicht eine Beurteilung der Signifikanz der Muster-ERG Antworten. Mit diesem Verfahren besteht die Option, auch niedrige Amplituden auszuwerten. Es werden dabei für die spezifischen Fourier-Bestandteile p-Werte errechnet. Typische Signifikanzstufen sind 5%, 1% und 0,1%. Durch die errechneten p-Werte kann beurteilt werden, inwieweit die Antworten der Messungen signifikant sind. So konnte eine Entscheidung getroffen werden, ob ein signifikanter Unterschied zwischen dem Signal des elektrophysiologischen Potentials und dem Rauschen bestand (Meigen & Bach, 2000).

Perimetrie

Die ersten Auswertungsschritte der Gesichtsfeldmessungen wurden in Kapitel 2.3.1 bereits beschrieben. Um die Gesichtsfelder besser vergleichen zu können, wurden weitere Schritte der Auswertung unternommen. Der Gesichtsfeldverlust jedes Patienten wurde in Stufen von 1 bis 8 eingeteilt (s. Tabelle 3.2).

Bei der Einteilung wurde hauptsächlich die Testmarke V4 beachtet. Wenn diese Testmarke jedoch vom Patienten nicht erkannt wurde, wurde die Marke III4 in die Auswertung mit einbezogen. Diese Einteilung entspricht in etwa der Klassifizierung, die Sugawara et al. (2010) in ihrer Studie verwendet haben. Durch die Klassifizierung kann eine grobe Vorstellung der erhaltenen Gesichtsfeldbereiche gewonnen werden. Die Ergebnisse wurden in einer Tabelle dargestellt. Mit der ersten arabischen Ziffer wurde die Stufe bezeichnet und mit der römischen plus arabischen die Größe und Leuchtdichte der Testmarke mit der diese Stufe erreicht wurde.

Tabelle 3.2: **Klassifikation der Gesichtsfeldausfälle:** Die Gesichtsfeldverluste wurden in Stufen von 1 bis 8 eingeteilt. Bei der Einteilung wurde hauptsächlich die Lichtmarke V4 verwendet.

Stufe	Klassifikation
1	verengtes Gesichtsfeld mit zentralen Skotomen
2	Ringskotom
3	verengtes Gesichtsfeld innerhalb der zentralen 30° mit peripheren visuellen Inseln
4	verengtes Gesichtsfeld innerhalb der zentralen 30° ohne periphere visuelle Inseln
5	verengtes Gesichtsfeld innerhalb der zentralen 15° mit peripheren visuellen Inseln
6	verengtes Gesichtsfeld innerhalb der zentralen 15° ohne periphere visuelle Inseln
7	verengtes Gesichtsfeld innerhalb der zentralen 10°
8	verengtes Gesichtsfeld innerhalb der zentralen 5°

Fundusautofluoreszenz

Bei der Auswertung der Fundusautofluoreszenz-Bilder wurde der Durchmesser des zentralen Bereichs quantifiziert, der noch erhalten ist. Die betroffenen Stellen, an denen das RPE abgestorben ist, erscheinen dunkel und die erhaltenen Bereiche mit den aktiven pathologischen Prozessen leuchten hell auf. Bei einigen Patienten war eine genaue Angabe des Durchmessers nicht möglich, sodass eine kurze Beschreibung des Fundusautofluoreszenz-Bildes erfolgte. Die Fundusautofluoreszenz diente, wie auch das Ganzfeld-ERG, bei dieser Arbeit hauptsächlich der Diagnosesicherung.

3.9.2 Statistik

Die statistische Auswertung des Vorversuchs und des Hauptexperiments erfolgte mit der Programmiersprache R. Diese freie Programmiersprache ist für statistisches Rechnen und für das Erstellen von statistischen Grafiken geeignet.

Vorversuch

Beim Vorversuch wurde der Zusammenhang zwischen dem Muster-ERG und dem multifokalen ERG untersucht. Dabei wurden die Amplituden der neun Probanden miteinander verglichen. Es wurden jeweils die Amplituden des multifokalen ERGs mit den Amplituden bei großen Karos und bei kleinen Karos des Muster-ERGs für den Vergleich verwendet. Die Gegenüberstellung der Amplituden wurde durch Regressions- und Korrelationsanalysen (Sachs, 2004, Wollschläger, 2010) vorgenommen. Hierbei konnte mit Hilfe von Steigung, Korrelationskoeffizient und Signifikanz auf Zusammenhänge zwischen den beiden elektrophysiologischen Methoden geschlossen werden. Zur besseren Übersicht der Ergebnisse wurden Streudiagramme

erstellt, die im Ergebnisteil dargestellt sind. Für die Berechnungen wurden nur die Amplitudenwerte beider Methoden verwendet. Beim multifokalen ERG wurde nach der Summation der fünf Ringe die Amplitude vom N1/P1 genutzt. Beim Muster-ERG wurden die Amplitudenwerte von den Ableitungen bei großen Karos sowie bei kleinen Karos in die Analyse mit einbezogen. Das bedeutet, dass die Werte des mfERG jeweils mit den PERG-Amplituden bei großen und bei kleinen Karos verglichen wurden.

Hauptexperiment

Im Hauptexperiment war ein Vergleich der beiden elektrophysiologischen Methoden bei RP-Patienten mittels einer Korrelationsanalyse oder einem Amplitudenvergleich wie im Vorversuch nicht möglich. Der Grund hierfür waren die größtenteils sehr niedrigen Amplituden und die häufig nicht signifikanten Antworten bei den Patientenmessungen. Für den Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa kam deshalb der McNemar-Test zur Anwendung.

Der McNemar-Test (Sachs, 2004, Wollschläger, 2010) dient in der Statistik zum Vergleich verbundener Stichproben, wobei ein dichotomes Merkmal untersucht wird. Dieser Test gehört zu den Chi-Quadrat-Tests. Der McNemar-Test wird z.B. dabei verwendet, wenn die selbe Gruppe an Patienten zum wiederholten Mal bezüglich des Auftretens eines Alternativmerkmals untersucht wird. Die dabei ermittelten Häufigkeiten werden in einer Vierfeldertafel aufgezeigt.

Tabelle 3.3: McNemar-Test Vierfeldertafel

	Untersuchung 2		
Untersuchung 1	pos	neg	gesamt
pos	a	b	a+b
neg	c	d	c+d
gesamt	a+c	b+d	n

Für die Berechnung wird eine Nullhypothese formuliert. Die allgemeine Formulierung lautet, dass sich die Untersuchungen 1 und 2 nicht in der Häufigkeitsverteilung unterscheiden. Dies bedeutet, dass die Nichtübereinstimmungen, beschrieben durch die Anzahlenverteilung b und c, sich nur durch die zufälligen Schwankungen ergeben.

Bei der Berechnung der Prüfgröße erfolgt ein Vergleich der Anzahlenverteilungen b und c und die Prüfung, ob diese vom Verhältnis 1:1 abweichen. Für die Errechnung von χ^2 wird folgende Formel verwendet:

$$\chi^2 = \frac{(b - c)^2}{b + c + 1}$$

Voraussetzungen für den McNemar-Test sind Untersuchungseinheiten, die paarweise von einander abhängig sind. Des Weiteren müssen die erwarteten Häufigkeiten größer 5 sein. Für die Bestimmung der Häufigkeitsverteilung mussten zunächst Kriterien festgelegt werden, wann eine PERG-Messung positiv oder negativ für diesen Test gesehen wird. Für die Kriterienbestimmung bei den Muster-ERG Antworten wurden die steady-state Ableitungen bei $2f_0$ (s. Abbildung 2.8) genauer betrachtet. Eine Aussage über die Signifikanz einer steady-state Antwort kann durch die Abschätzung des Signal-Rausch-Verhältnisses zur Amplitude der Nachbarfrequenzen getroffen werden (Bach & Meigen, 1999). Als positiv wurde eine Antwort bezeichnet, wenn die Antwort signifikant war. Zu den signifikanten Ableitungen zählen Antworten bei einem p-Wert unter 5 %.

Genauso musste diese Entscheidung beim multifokalen ERG getroffen werden. Beim multifokalen ERG wurden die Antworten, wie im Kapitel 3.9.1 beschrieben, zu einer Kurve summiert und durch die Anwendung des „Time Varying Filtering“ geglättet. Die Ableitungen wurden als positiv gewertet, wenn das Signal über das Hintergrundrauschen hinaus ging. Wenn dies nicht der Fall war, wurde die Antwort als nicht signifikant, demgemäß mit 0 μV bewertet und dadurch beim McNemar-Test zu den negativen Häufigkeiten gezählt. Dabei bestand das Problem, dass sich im Rauschen eventuell eine Antwort verbergen könnte, aber man das Rauschen nicht auswerten wollte. Das hatte den Nachteil, dass Antworten vielleicht nicht berücksichtigt wurden, aber es gab einen Kompromiss: Die Gipfel mussten zur richtigen Zeit zu finden sein und über andere Komponenten hinausragen. Zudem musste die Kurvenform bzw. der Kurvenverlauf denen der Normalpersonen ähneln.

4 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse des Hauptexperiments sowie des Vorversuchs dargestellt. Als erstes wird auf die Untersuchungsergebnisse aller Methoden bei einer Versuchsperson eingegangen. Dadurch erhält man eine Vorstellung über die Augenkrankheit bedingten Veränderungen bei den einzelnen Untersuchungsverfahren. Des Weiteren wird ein Überblick über die Messresultate aller Patienten gegeben, um die statistische Auswertung besser nachvollziehen zu können. Im Anschluss folgen die Ergebnisse der zu vergleichenden Methoden.

4.1 Darstellung der Ergebnisse des Hauptexperiments

4.1.1 Ergebnisdarstellung einer Versuchsperson

Für die Darstellung der Messergebnisse einer Versuchsperson wurde Patient 2 ausgesucht, da dieser einige typische Veränderungen in den einzelnen Untersuchungen aufzeigt, sich jedoch noch nicht in einem stark fortgeschrittenen Stadium befindet. Aus diesem Grund sind bei den elektrophysiologischen Methoden noch Antworten registrierbar. Diese Person kann sich bisher ohne Probleme im Raum orientieren und ebenso lesen. Die Sehschärfe ist noch gut erhalten und liegt bei $\text{Visus} = 1,0$. Die RP-Erkrankung beider Augen ist ziemlich gleich weit fortgeschritten.

In Abbildung 4.1 sieht man links oben die Kurven des multifokalen ERGs. Die kleinen Kurven stehen für die Ableitungen jedes Sechsecks. Das multifokale ERG war auf beiden Augen im gesamten Messbereich ableitbar. Wie man an der Darstellung der 61 Originalantworten erkennen kann, sind die Amplituden jedoch reduziert. Die Amplitudenreduktion macht sich vor allem im peripheren Bereich bemerkbar. Allerdings gibt es Patienten bei denen der charakteristische Unterschied bei Retinitis Pigmentosa zwischen stark reduzierten Antworten in der Peripherie und noch erhaltenen zentralen Ableitungen stärker sichtbar ist. Die Ringgruppenanalyse (Abbildung 4.1 rechts oben) zeigt die Amplitudenreduktion noch deutlicher. Links sind die fünf Ringe des Patienten 2 und rechts zum Vergleich die Normwerte dargestellt.

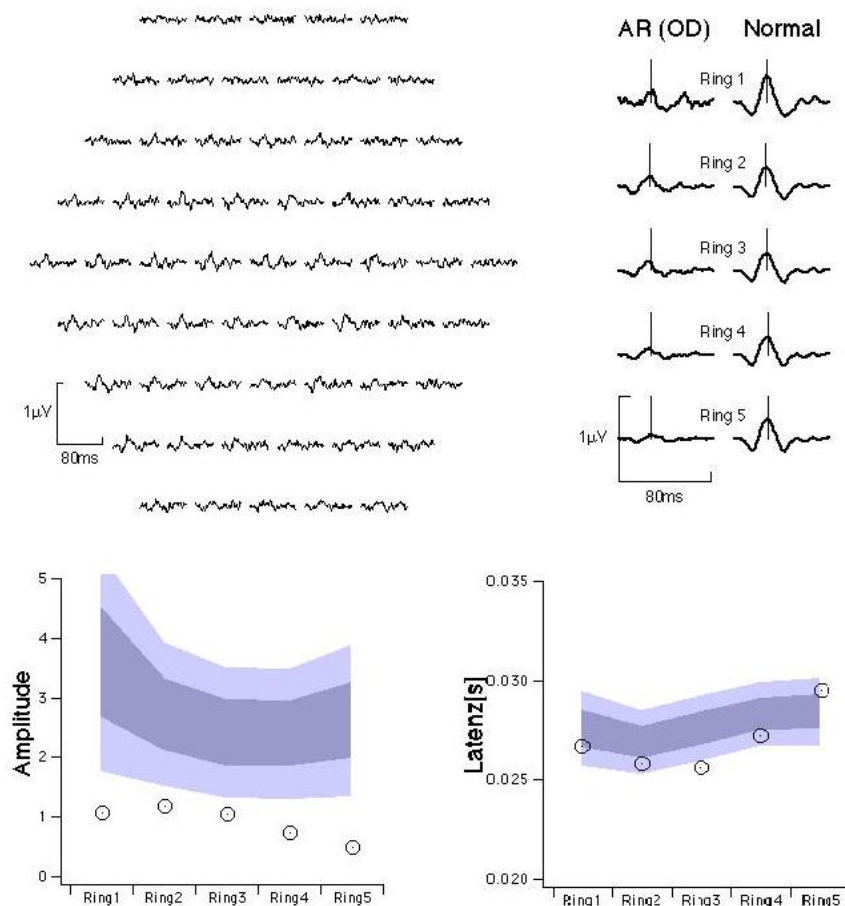


Abbildung 4.1: **Darstellung der mfERG-Antworten von Patient 2:** Links oben sieht man die Kurven des multifokalen ERGs. Die kleinen Kurven stehen für die Ableitungen jedes Sechsecks. Das multifokale ERG war auf beiden Augen im gesamten Messbereich ableitbar. Wie man an der Darstellung der 61 Originalantworten erkennen kann, sind die Amplituden jedoch reduziert. Die Amplitudenreduktion macht sich vor allem im peripheren Bereich bemerkbar. Die Ringgruppenanalyse rechts oben zeigt die Amplitudenreduktion noch deutlicher. Links sind die fünf Ringe des Patienten 2 und rechts zum Vergleich die Normwerte dargestellt. Die Amplitudenwerte aller fünf Ringe befinden sich nicht im Normbereich. Auf die Gipfelzeit bzw. Latenz hat sich die Krankheit bisher kaum ausgewirkt, wie es im Bild rechts unten offensichtlich ist. Die Latenzen aller fünf Ringe sind regelrecht.

Die peripheren Bereiche weisen auch bei Normalpersonen etwas niedrigere Amplituden als im Zentrum auf. Nichtsdestotrotz ist die geringere Amplitudenhöhe der Ableitungen des Patienten nicht zu übersehen. In Abbildung 4.1 links unten ist der Unterschied zu gesunden Personen noch deutlicher zu erkennen. Die Amplitudenwerte aller fünf Ringe befinden sich nicht im Normbereich. Der farbige Bereich in der Abbildung links unten stellt den Normbereich dar. Dabei steht das dunkel gekennzeichnete Areal für die erste Standardabweichung ($\pm\sigma$).

Die hellen Streifen zeigen die zweite Standardabweichung ($\pm 2\sigma$). Auf die Gipfelzeit bzw. Latenz hat sich die Krankheit bisher kaum ausgewirkt, wie es in Abbildung 4.1 rechts unten offensichtlich ist. Die Latenzen aller fünf Ringe sind regelrecht.

In Abbildung 4.2 sieht man die Ergebnisse der Muster-ERG Messung. Um die Veränderungen der Muster-ERG Antworten von Patient 2 besser nachvollziehen zu können, sollte zum Vergleich die Abbildung 2.8 mit der Darstellung des PERGs eines gesunden Menschen herangezogen werden. Das erste Bild zeigt die transiente Ableitung bei großen Karos. Zunächst fällt die leichte Amplitudenreduktion auf. Der Amplitudenwert beträgt $2,2 \mu\text{V}$. Außerdem sind N35 und N95 nicht stark ausgeprägt. Hier ist eine deutlich signifikante Antwort ableitbar, wobei die Amplituden reduziert sind. Die registrierten Antworten der transienten sowie steady-state Messung bei kleinen Karos verhalten sich ähnlich. Unterschiede zwischen den Ableitungen mit großen und kleinen Karos sind in der Reproduzierbarkeit der Messungen zu sehen und die Amplituden sind bei den Antworten bei kleinen Karos etwas höher.

Das Ganzfeld-ERG war bei Patient 2 noch nicht „erloschen“. Die skotopische und die photopische Antwort waren deutlich reduziert, aber eine Restfunktion ließ sich noch nachweisen. Diese Tatsache zeigt, dass die Retinitis Pigmentosa bei diesem Patient noch nicht weit fortgeschritten ist (Abbildung 6.2 und 6.3 im Anhang).

Auch das Bild der Fundusautofluoreszenz (Abbildung 4.3) zeigt, dass die pathologischen Prozesse noch keinen allzu großen Schaden „angerichtet“ haben. Bei dem 30° Ausschnitt des FAF-Bildes sieht der Fundus „normal“ aus. Man erkennt keine defekten schwarzen Stellen, höchstens ganz am Rande, wobei es hier auch um einen Schatten handeln könnte. Es gibt ebenfalls keine Areale, die aufgrund von Lipofuszin-Ansammlungen aufleuchten.

Die Prüfung des Gesichtsfeldes zeigte ein für RP charakteristisches Restgesichtsfeld. Man bemerkt die Einengung des Gesichtsfeldes aus der Peripherie. Es ist ein Restgesichtsfeld von ca. 30° erhalten (Abbildung 6.1 im Anhang).

4.1.2 Überblick der Ergebnisse aller Versuchspersonen

In diesem Abschnitt werden die Untersuchungsergebnisse aller Patienten zur Übersicht in Tabelle 4.1 dargestellt. Dadurch ist der direkte Vergleich der Sehschärfe, der drei elektrophysiologischen Verfahren, des restlichen Gesichtsfeldes sowie der Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen aller Patienten möglich.

Bei dem Visus wurde die Sehschärfe für die Nähe genannt, weil die für alle Untersuchungen relevanter war. Die Tabelle zeigt eine mögliche Ableitung („ja“ oder „nein“) für das mfERG und das Muster-ERG. Hier wurde beim PERG als ableitbar bezeichnet, wenn zumindest bei einer Karogröße eine Antwort registriert werden konnte. Beim Ganzfeld-ERG

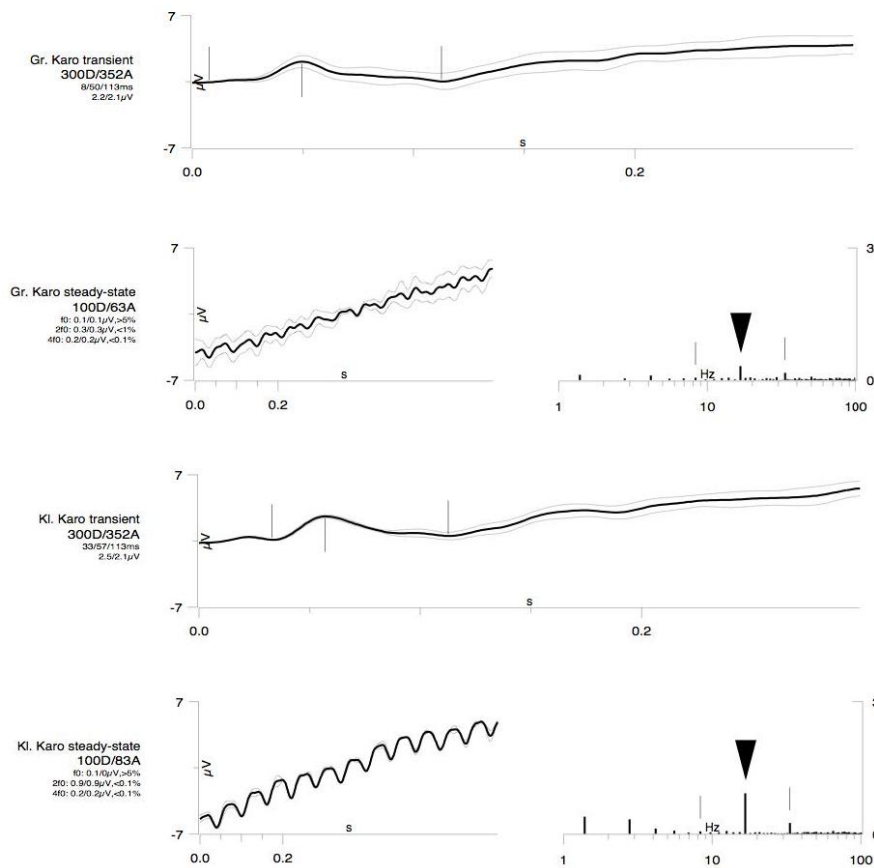


Abbildung 4.2: **Darstellung der Muster-ERG Antworten von Patient 2:** Das erste Bild zeigt die transiente Ableitung bei großen Karos. Die Amplitude ist leicht reduziert. Der Amplitudenwert beträgt 2,2 µV. Außerdem sind N35 und N95 nicht stark ausgeprägt. Das zweite Bild steht für die steady-state Antworten bei großen Karos. Hier ist eine deutlich signifikante Antwort ableitbar, wobei die Amplituden offensichtlich reduziert sind. Die registrierten Antworten der transienten sowie steady-state Messung bei kleinen Karos verhalten sich ähnlich. Unterschiede sind in der Reproduzierbarkeit der beiden Messung zu sehen und die Amplituden sind etwas höher.

Tabelle 4.1: **Übersicht über alle Untersuchungen:** Beim Visus wird die Sehschärfe für die Nähe angegeben. HB steht für Handbewegung. Die Ergebnisse des ERGs werden als reduziert („red.“) oder erloschen („erl.“) dargestellt. Bei den elektrophysiologischen Untersuchungen stehen „ja“ und „nein“ für ableitbar und nicht ableitbar. Die Gesichtsfelder wurden in Stufen von 1 bis 8 eingeteilt, die mit der Lichtmarke V4 oder III4 gemessen wurden. Bei der FAF wird der Durchmesser des erhaltenen Bereichs genannt.

	Visus	ERG	PERG	mfERG	Perimetrie	FAF
Patient1 RA	0,2	erl.	nein	nein	Stufe 4 (V4)	kleine defekte Inseln
Patient1 LA	0,2	erl.	ja	nein	Stufe 3 (V4)	kleine defekte Inseln
Patient2 RA	1,0	red.	ja	ja	Stufe 4 (V4)	bei 30° Normalbefund*
Patient2 LA	1,0	red.	ja	ja	Stufe 4 (V4)	bei 30° Normalbefund*
Patient3 RA	0,13	erl.	nein	nein	Stufe 6 (V4)	0 mm
Patient3 LA	0,13	erl.	nein	nein	Stufe 6 (V4)	0 mm
Patient4 RA	0,5	erl.	nein	nein	Stufe 2 (V4)	7,16 mm x 5,55 mm
Patient4 LA	0,63	erl.	nein	ja	Stufe 2 (V4)	6,39 mm x 6,15 mm
Patient5 RA	0,01	erl.	nein	nein	Stufe 7 (V4)	0 mm
Patient5 LA	0,01	erl.	nein	nein	Stufe 7 (V4)	0 mm
Patient6 RA	0,5	erl.	ja	ja	Stufe 6 (V4)	6,16 mm x 6,52 mm
Patient6 LA	0,31	erl.	ja	nein	Stufe 6 (V4)	5,33 mm x 6,37 mm
Patient7 RA	0,31	erl.	nein	nein	Stufe 7 (III4)	0 mm
Patient7 LA	0,2	erl.	nein	nein	Stufe 7 (III4)	0 mm
Patient8 RA	0,4	erl.	nein	nein	Stufe 7 (V4)	0 mm
Patient8 LA	0,13	erl.	nein	nein	Stufe 7 (V4)	0 mm
Patient9 RA	0,025	erl.	nein	nein	Stufe 7 (V4)	kein FAF
Patient9 LA	0,05	erl.	nein	nein	Stufe 6 (V4)	kein FAF
Patient10 RA	0,05	erl.	nein	nein	Stufe 1 (III4)	0 mm
Patient10 LA	0,05	erl.	nein	nein	Stufe 1 (III4)	0 mm
Patient11 RA	HB	erl.	ja	nein	Stufe 1 (V4)	0 mm
Patient11 LA	HB	erl.	nein	nein	Stufe 1 (V4)	0 mm
Patient12 RA	0,06	erl.	nein	nein	Stufe 8 (V4)	0 mm
Patient12 LA	0,13	erl.	nein	nein	Stufe 8 (V4)	0 mm
Patient13 RA	0,04	erl.	nein	nein	Stufe 8 (V4)	0 mm
Patient13 LA	0,025	erl.	nein	nein	Stufe 7 (V4)	0 mm
Patient14 RA	0,5	erl.	ja	nein	Stufe 5 (V4)	6,77 mm x 7,13 mm
Patient14 LA	0,5	erl.	ja	ja	Stufe 5 (V4)	7,25 mm x 6,36 mm

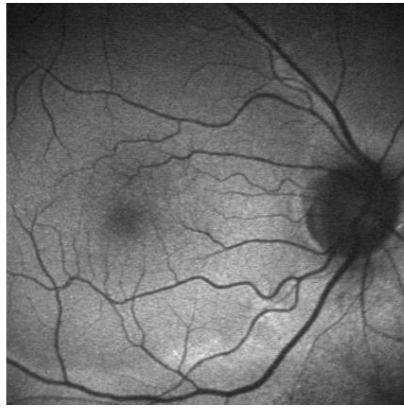


Abbildung 4.3: **Darstellung des Augenhintergrunds mit der Fundusautofluoreszenz von Patient 2:** Bei dem 30° Ausschnitt des FAF-Bildes sieht der Fundus „normal“ aus. Man erkennt keine defekten schwarzen Stellen, höchstens ganz am Rande, wobei es hier auch um einen Schatten handeln könnte. Es gibt ebenfalls keine Areale, die aufgrund von Lipofuszin-Ansammlungen aufleuchten.

wird zwischen „reduzierten“ („red.“) und „erloschenen“ („erl.“) Antworten unterschieden. Die Ergebnisse der Gesichtsfelder sind in Stufen von 1 bis 8, wie in Kapitel 3.9.1 beschrieben, aufgezeigt. Die Testmarke mit der diese Stufe erreicht wurde steht in Klammern. Im Anhang findet man für jede Stufe ein entsprechendes Gesichtsfeld eines Patienten. In der Spalte FAF der Tabelle 4.1 werden die Durchmesser des nicht betroffenen zentralen Bereichs in der Fundusautofluoreszenz-Aufnahme angegeben. Dazu muss gesagt werden, dass die FAF von Patient 1 nur kleine defekte Inseln peripher zeigte. Bei Patient 9 liegt keine FAF vor, weil ein Nystagmus auf beiden Augen keine scharfen Aufnahmen möglich machte. Patient 10 hatte zentral zwar defekte Areale, aber peripher waren noch intakte Restinseln erhalten. Auch bei den FAF-Bildern sind einige Aufnahmen der Patienten im Anhang aufgeführt.

Wie man der Tabelle 4.1 entnehmen kann, ist das Elektroretinogramm bei allen Versuchspersonen außer bei Patient 2 „erloschen“. Dies war jedoch zu erwarten, da Antworten des skotopischen und photopischen ERGs bei Retinitis Pigmentosa oft bereits im Anfangsstadium nicht mehr registriert werden können oder zumindest deutlich reduziert sind. Durch das Elektroretinogramm wurde die Diagnose nochmals bestätigt. Man sieht in der Darstellung der Ergebnisse ebenfalls, dass sich die meisten Patienten in einem relativ weit fortgeschrittenen Stadium befinden. Wenn man die Patienten 2 und 11 außer Acht lässt, liegt die Sehschärfe zwischen 0,01 und 0,63. Die Tatsache, dass bei der Mehrheit der Patienten weder ein multifokales ERG noch ein Muster-ERG ableitbar war, verdeutlicht gleichermaßen das weite Fortschreiten der Erkrankung. Lediglich bei 8 von 28 Augen war eine Ableitung eines Muster-ERGs möglich. Beim multifokalen ERG waren es sogar nur 5 von 28 Augen. Wenn bei einem

Patienten nur bei einem Auge Antworten erfasst werden konnten, handelte es sich hierbei meist um das bessere Auge. Man kann allerdings nicht eindeutig sagen, ab welchem Visus noch eine Registrierung der elektrischen Signale möglich ist.

Die Großzahl der Versuchspersonen wies ein für RP typisches Gesichtsfeld auf. Die Einengung des Gesichtsfeldes aus der Peripherie war wesentlich für die Einschränkung des Blickfeldes der Patienten. Die Mehrheit hat ein Restgesichtsfeld unter 30°. Es lässt sich ein leichter Zusammenhang zwischen Restgesichtsfeld und den beiden zu vergleichenden Methoden beobachten. Einige Patienten, bei denen zumindest ein mfERG oder ein PERG messbar ist, weisen ein erhaltenes Gesichtsfeld zwischen 30° und 15° auf. Ein weiterer Trend ist in Beziehung auf die FAF-Untersuchung erkennbar. Bei Patienten, bei denen der zentrale Bereich noch nicht betroffen ist und ein Durchmesser dieses Areals angegeben werden konnte, war eine Ableitung mindestens mit einem der beiden elektrophysiologischen Verfahren möglich.

4.2 Statistik

4.2.1 Vorversuch

Die statistische Auswertung des Vorversuchs beschäftigte sich mit dem Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs. Dabei wurde der Zusammenhang der beiden Methoden mittels Korrelations- und Regressionsanalyse geprüft. Für die Analyse des Vorversuchs wurden die neun Probanden mit beiden Methoden gemessen. Von jeder Versuchsperson wurden nur die Daten des beim mfERGs weitgestellten Auges zur weiteren Berechnung verwendet. Bei allen Teilnehmern waren Muster-ERG Antworten sowie multifokale Antworten ableitbar. Die Ableitungen waren alle im Normbereich. Die Amplitudenwerte des multifokalen ERGs nach der Summation über alle Felder lagen zwischen 13,1 μV und 29,3 μV . Die Werte bei großen Karos der transienten Muster-ERG Antworten lagen im Bereich von 1,7 μV und 7,2 μV . Bei kleinen Karos der transienten Antworten befanden sich die Amplituden zwischen 1,9 μV und 5,6 μV .

In Abbildung 4.4 sind die Amplitudenwerte des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei großen Karos in einem Streudiagramm gegeneinander aufgetragen. Durch die Betrachtung der eingezeichneten Regressionsgeraden und der Punkte wird die Vermutung, dass zwischen den beiden elektrophysiologischen Verfahren ein Zusammenhang besteht, zunächst bestärkt. Einige der eingetragenen Punkte liegen in der Nähe der Geraden. Ein Maß dafür, wie stark die Datenpunkte um die Regressionsgerade streuen, stellt der Korrelationskoeffizient dar. Der Korrelationskoeffizient lag bei dieser Datenreihe bei $r = 0,65$. Dieses Ergebnis ließ auf

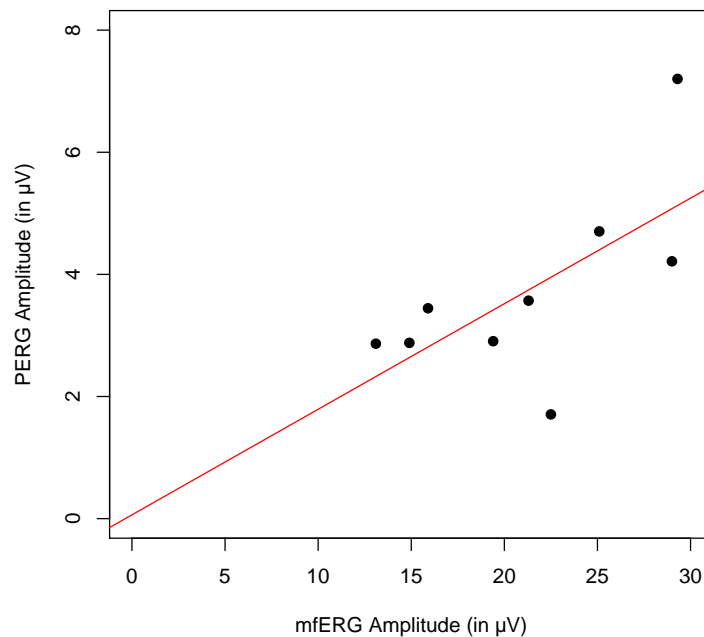


Abbildung 4.4: Regressionsanalyse zwischen den Amplituden des mfERGs nach der Summation aller 61 Originalantworten und des transienten PERGs bei großen Karos.

einen geringeren Grad der Korrelation schließen. Die Messwerte wiesen einen p-Wert von $p = 0,056$ auf. Da der p-Wert also größer als das Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ war, ist der Korrelationskoeffizient nicht signifikant von Null verschieden. Diese Tatsache berechtigt nicht die eindeutige Aussage, dass zwischen den beiden Methoden ein linearer Zusammenhang existiert. Trotzdem kann zwischen den Messreihen ein statistischer Zusammenhang bestehen. Anhand der Werte erkennt man jedoch eine Tendenz, dass die Methoden zusammenhängen. Der Vergleich der Messwerte der multifokalen Messung gegenüber der Ableitung bei kleinen Karos des Muster-ERGs verhält sich ähnlich. In der Abbildung 4.5 sieht man, dass die Punkte relativ nah an der Regressionsgeraden verstreut sind.

Beim statistischen Vergleich der Untersuchungsmethoden resultierte ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,62$. Die Vermutung einer bestehenden Korrelation wird mit einem p-Wert von $p = 0,077$ verworfen. Der Korrelationskoeffizient r ist auch hier nicht signifikant von Null verschieden, wodurch auch hier eine Bestätigung für einen linearen Zusammenhang nicht gegeben ist. Auch wenn der Korrelationskoeffizient bei dieser Analyse ebenfalls keinen linearen Zusammenhang bestätigt, erkennt man trotzdem einen Trend, dass das multifokale ERG und das Muster-ERG zusammenhängen.

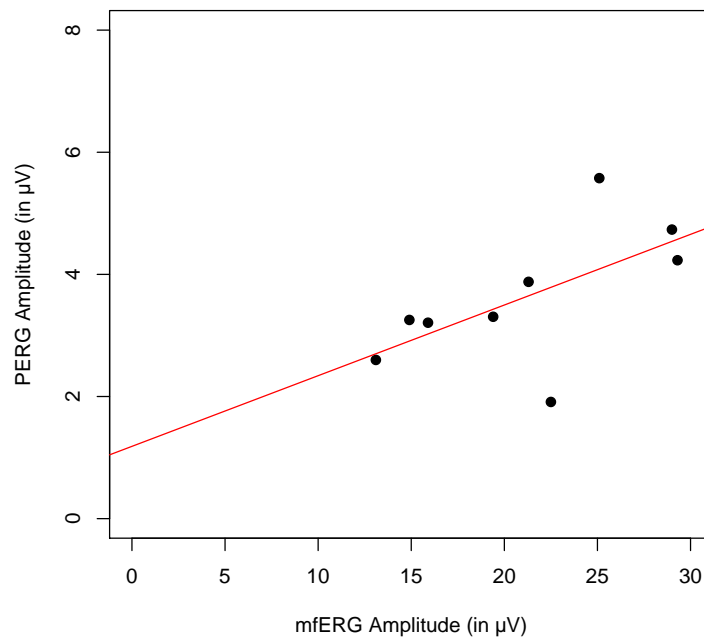


Abbildung 4.5: Regressionsanalyse zwischen den Amplituden des mfERGs nach der Summation aller 61 Originalantworten und des transienten PERGs bei kleinen Karos.

Bei beiden Datenreihen fallen jeweils zwei Datenpunkte im Streudiagramm auf. Der vertikale Abstand dieser Datenpunkte zur Regressionsgeraden ist im Vergleich zu den anderen Messpunkten erheblich größer. Der Datenpunkt oberhalb der Regressionsgeraden in Abbildung 4.4 und der Datenpunkt oberhalb der Geraden in Abbildung 4.5 stammen nicht von der selben Person. Dies bedeutet, dass nicht bei großen und bei kleinen Karos eine Abweichung zu den Messdaten der anderen Versuchsteilnehmer da ist. Die auffälligen Datenpunkte unterhalb der Geraden (s. Abbildung 4.4 und 4.5) sind von der gleichen Testperson. Das bedeutet, dass bei beiden Karogrößen eine Abweichung zu den Datenpunkten der anderen Probanden vorliegt. Nimmt man die auffälligen Datenpunkte unterhalb der Geraden aus den Berechnungen der Korrelationskoeffizienten heraus, dann wird eine bestehende Korrelation zwischen dem Muster-ERG und dem multifokalen ERG signifikant bestätigt. Der Korrelationskoeffizient bei der Berechnung mit den Amplitudenwerten des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei großen Karos ergibt $r = 0,796$. Der zugehörige p-Wert liegt bei $p = 0,018$. Für kleine Karos errechnet sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,821$. Diese hohe Korrelation wird mit einem $p = 0,013$ signifikant bestärkt. Durch die neu errechneten Korrelationskoeffizienten und Signifikanzwerte wird der bereits bestehende Trend eines linearen Zusammenhangs zwischen

dem Muster-ERG und dem mfERG zusätzlich verstärkt.

4.2.2 Hauptexperiment

Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit liegt auf dem Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa. Die Daten der 14 Patienten, die beim Hauptexperiment teilnahmen, wurden mit dem McNemar-Test statistisch ausgewertet. Im Folgenden ist zunächst einmal die ermittelte Häufigkeitsverteilung in Vierfeldertafeln veranschaulicht. Die Nullhypothese lautete jeweils: „Die beiden Methoden messen bei RP-Patienten gleich gut bzw. schlecht.“ Diese sollte gegen die Alternativhypothese „Eine der Methoden misst besser bei RP-Patienten“ untersucht werden. Beim McNemar-Test wurden beide Augen jedes Patienten in eine Datenreihe aufgenommen, sodass bei 14 Patienten 28 Messdaten in die Berechnung mit eingingen. Außerdem wurde das multifokale ERG jeweils einzeln mit den PERG-Amplituden der beiden Karogrößen verglichen.

Der Test sollte zum Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ durchgeführt werden. Die Nullhypothese wird bei $\alpha = 0,05$ verworfen, wenn

$$\frac{(b - c)^2}{b + c + 1} > \chi^2_{FG;1-\alpha} = 3,841$$

gilt. Beim McNemar-Test ist der Freiheitsgrad $FG = 1$. Da bei den Untersuchungen nur 14 Patienten gemessen wurden und dadurch nur 28 Messdaten zur Verfügung standen, musste beim McNemar-Test eine Kontinuitätskorrektur vorgenommen werden. Die Kontinuitätskorrektur oder auch Stetigkeitskorrektur erfolgt dann, wenn $n < 60$ ist.

Tabelle 4.2: McNemar-Test für das mfERG und das PERG bei großen Karos

	mfERG		
PERG	pos	neg	gesamt
pos	4	2	6
neg	1	21	22
gesamt	5	23	28

In Tabelle 4.2 sieht man die Häufigkeitsverteilung der Daten bei großen Muster-ERG Karos. Der McNemar-Test berücksichtigt nur Änderungsfälle, d.h. in diesem Fall nur die Patienten, bei denen nur bei einer Methode eine signifikante Ableitung möglich war. Da bei dieser Stichprobe nur drei Patienten berücksichtigt werden konnten, resultierte ein χ^2 von $\chi^2 = 0$ (mit Kontinuitätskorrektur). Der zugehörige p-Wert liegt bei 1,0. Die Häufigkeiten der Urteile

in beiden Untersuchungsmethoden sind demgemäß ungefähr gleich groß. Dies bedeutet die Nullhypothese „Die beiden Methoden messen bei RP-Patienten gleich gut bzw. schlecht.“ kann nicht verworfen werden.

Tabelle 4.3: McNemar-Test für das mfERG und das PERG bei kleinen Karos

	mfERG		
PERG	pos	neg	gesamt
pos	4	4	8
neg	1	19	20
gesamt	5	23	28

Die Stichprobe des mfERGs und der PERG-Messung bei kleinen Karos ist in Tabelle 4.3 dargestellt. Hier ist der Unterschied zwischen den Häufigkeiten b und c etwas größer, somit resultiert ein χ^2 -Wert von $\chi^2 = 0,8$ (mit Kontinuitätskorrektur). Der zugehörige Signifikanzwert beträgt $p = 0,37$. Zwar ist $\chi^2 \neq 0$ trotzdem kann die Nullhypothese nicht verworfen und die Alternativhypothese nicht angenommen werden. Der Grund hierfür ist, dass $\chi^2 < 3,841$. Die Untersuchung gibt also keinen Hinweis darauf, dass eine der beiden Verfahren bei RP-Patienten besser misst.

Die Prüfung, welche der zwei Methoden besser für die Messung bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa geeignet ist, ergab keine signifikanten Ergebnisse. Aus den Daten ist nichtsdestotrotz ein Trend ersichtlich, dass mit dem Muster-ERG bei mehr Patienten Antworten registrierbar waren als mit dem multifokalen ERG. Außerdem muss an dieser Stelle verdeutlicht werden, dass die Voraussetzungen für die Untersuchung der Messergebnisse mit dem McNemar-Test nicht vollständig gewährleistet waren, denn die ermittelten Häufigkeiten waren in keiner Stichprobe für b und c größer 5. Die Prüfgröße χ^2 wurde dennoch berechnet. Es sollte nämlich überprüft werden, ob zumindest ein Hinweis zu erkennen ist, welches Verfahren sich für die Verlaufskontrolle bei RP besser eignet.

5 Diskussion

Der zentrale Gegenstand dieser Arbeit ist die Untersuchung, welche der elektrophysiologischen Methoden (das Muster-ERG oder das multifokale ERG) bei Retinitis Pigmentosa Patienten besser zur Verlaufskontrolle geeignet ist. Die Studie umfasste zusätzlich zu den Messungen mit dem mfERG und dem Muster-ERG weitere Untersuchungen, wie das Ganzfeld-Elektroretinogramm, die Prüfung des Gesichtsfeldes und die Fundusautofluoreszenz. Die statistische Auswertung erbrachte leider kein eindeutiges Ergebnis über die besseren Eigenschaftseigenschaften des multifokalen ERGs oder des Muster-ERGs.

Die Untersuchung der Verwendbarkeit der beiden elektrophysiologischen Verfahren bei der Kontrolle des Krankheitsverlaufs standen bereits im Fokus einiger vorangegangener Studien (Seeliger et al., 1998; Hood et al., 1998; Palmowski et al., 2001; Nagy et al., 2008; Janáky et al., 2008 und Hawlina et al., 1998). Ein direkter Vergleich dieser Methoden wurde ebenfalls in einer Studie untersucht (Neveu et al., 2006), jedoch nicht bei RP-Patienten sondern bei Patienten mit altersbedingter Makuladegeneration.

5.1 Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Normalprobanden

Zu Beginn der Studie musste zunächst einmal die Frage geklärt werden, ob das multifokale ERG und das Muster-ERG einen Zusammenhang in den Messungen bei gesunden Probanden aufweisen. Die Hypothese für das Bestehen eines Zusammenhangs war durch bisherige Erfahrung bei den Messungen gegeben. Durch die allgemeinen Ableiteigenschaften des Auges beispielsweise müssten bei beiden Methoden die gleichen Voraussetzungen bei der Ableitung vorliegen. Für die Überprüfung der Vermutung wurde die Korrelation zwischen den Amplituden der zwei Untersuchungsmöglichkeiten analysiert. Die Amplituden der Summenantwort über alle Felder des multifokalen ERGs wurden jeweils mit den Muster-ERG Amplituden bei Messungen mit großen und kleinen Karos verglichen. Die Korrelations- und Regressionsanalysen lieferten jeweils nur eine mittlere Korrelation bei großen Karos $r = 0,65$ und bei

kleinen Karos $r = 0,62$. Allerdings können die dazugehörigen Signifikanzwerte $p = 0,056$ und $p = 0,077$ eine Korrelation zwischen den beiden elektrophysiologischen Methoden nicht eindeutig bestätigen.

Zu dieser Fragestellung wurden keine früheren Arbeiten gefunden, die sich direkt mit diesem Thema befassen haben und mit denen die Werte verglichen werden könnten. Eine Studie beschäftigte sich jedoch indirekt mit diesem Thema. In der Arbeit von Neveu et al. (2006) wurde die Beziehung des mfERG und des PERGs bei Patienten mit altersbedingter Makuladegeneration betrachtet. Dabei wurden die Amplituden von P50 mit den Amplituden des P1 (s. Kapitel 2.2.3 und 3.9.1) unter anderem ebenfalls bei dem asymptomatischen Auge verglichen. In diesem Fall war eine signifikante Korrelation zwischen den Amplitudenwerten vorhanden ($p < 0,0001$).

Mögliche Gründe für den Unterschied zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und der Studie von Neveu und Kollegen könnte die Tatsache sein, dass bei der vorliegenden Arbeit eine Summation aller fünf Ringe zu einer Kurve erfolgte und bei der Studie aus dem Jahr 2006 lediglich der erste und der zweite Ring summiert wurden. Außerdem wurde in der Studie von Neveu beim Muster-ERG nur eine Karogröße verwendet. Die Karos hatten eine Größe von 45 Winkelminuten ($0,75^\circ$). In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Größen ($0,8^\circ$ und 18°) verwendet. Hinzu kommt, dass bei Neveu et al. alle Patienten über 50 Jahre alt waren. Bei der vorliegenden Arbeit waren die Probanden hingegen zwischen 22 und 57 Jahre alt, wobei die meisten unter 30 Jahren waren. Im Alter verändern sich die Normwerte. Beim multifokalen Zapfen-ERG beispielsweise werden die Amplituden pro Dekade um $1,1 \mu V$ vermindert (Langrova et al., 1998).

Der Verdacht, dass die nicht vorhandene Signifikanz bei der vorliegenden Arbeit mit der geringen Anzahl an Probanden zusammenhängen könnte, wurde durch die Studie von 2006 nicht bestätigt. Im Rahmen der Studie von Neveu waren nur 8 von 13 Patienten für die Korrelationsprüfung geeignet, da erstens nur 9 Patienten keine Symptome zeigten und zweitens bei einem Patienten kein Muster-ERG abgeleitet werden konnte. Somit war an dieser Untersuchung sogar eine Versuchsperson weniger beteiligt als in der vorliegenden Arbeit.

Eine mögliche Ursache für das Ergebnis des Vergleichs der elektrophysiologischen Verfahren bei Normalprobanden ist die Auswertung der Resultate mit der Korrelationsanalyse. Die Ermittlung des Korrelationskoeffizienten kann manchmal missverständlich sein. Dieser berechnet den linearen Zusammenhang und nicht die Übereinstimmung. Bei Messwerten mit hoher Korrelation, wie z.B. $r = 0,95$ kann eine schlechte Übereinstimmung verborgen bleiben. Für eine „gute“ Korrelation ist es zudem wichtig, dass die Datenpunkte über einen Rahmen in beide Richtungen gut verteilt sind. Die eingetragenen Punkte sollten demnach eine stärker-

re Verteilung nahe der Regressionsgeraden aufweisen. Punktwolken wie bei der Auswertung des Vorversuchs weisen des Öfteren eine schlechte Korrelation auf. Wenn im Extremfall die eingetragenen Punkte alle an der gleichen Stelle im Koordinatensystem liegen würden, wäre $r = 0$ (Bland & Altman, 1986).

Wie in den Grafiken 4.4 und 4.5 ersichtlich ist, sind bei beiden Datenreihen jeweils zwei Datenpunkte im Streudiagramm auffällig. Die auffallenden Datenpunkte, die jeweils unterhalb der Geraden zu finden sind, sind von der gleichen Person. Das bedeutet, dass bei beiden Karogrößen eine Abweichung zu den Datenpunkten der anderen Probanden vorliegt. Würde man die auffälligen Datenpunkte unterhalb der Geraden aus den Berechnungen der Korrelationskoeffizienten herausnehmen, dann würde sich eine bestehende Korrelation zwischen dem Muster-ERG und dem multifokalen ERG ($r = 0,796$ und $r = 0,821$) signifikant bestätigen ($p = 0,018$ und $p = 0,013$). Der Grund für diese starke Veränderung der Ergebnisse ist vermutlich die Tatsache, dass es sich bei den Datenpunkten um die Messwerte der ältesten Testperson handelt. Die Amplitudenwerte des Muster-ERGs liegen bei dieser Versuchsperson zwar noch im Normbereich, weichen aber von den Werten der anderen Versuchsteilnehmern stark ab. Die Amplituden der mfERG Messung sind hingegen ähnlich, wie die der anderen Probanden. Eine mögliche Ursache für den Unterschied zwischen den beiden elektrophysiologischen Messungen bei dieser Testperson könnte sein, dass die optischen Medien auf das Ergebnis des Muster-ERGs eine größere Auswirkung haben als auf das mfERG. Aufgrund des Alters dieser Versuchsperson ist bei ihr beispielsweise mit einer beginnenden Katarakt zu rechnen, was sich auf die Amplitudenhöhe auswirken kann. Die auffallenden Datenpunkte, die in beiden Diagrammen oberhalb der Regressionsgeraden liegen, stammen nicht von der selben Person. Dies bedeutet, dass nicht bei großen und bei kleinen Karos eine Abweichung zu Messdaten der anderen Versuchsteilnehmer da ist. Außerdem gibt es in diesem Fall kein einfaches Kriterium, wie beispielsweise das Alter, was diese Abweichung von den anderen Datenpunkten erklärt.

Zwar lieferten die Ergebnisse der Korrelationsprüfung keinen eindeutigen Beweis über eine bestehende Beziehung zwischen dem Muster-ERG und dem multifokalen ERG, so lässt sich trotzdem ein Trend erkennen, dass das multifokale ERG und das Muster-ERG zusammenhängen. Eine genaue Überprüfung des Zusammenhangs der zwei Methoden bei Normalpersonen sollte in einer weiteren Studie mit einer größeren Probandenzahl und einer besseren Altersverteilung erfolgen, um diese Frage endgültig zu klären.

5.2 Vergleich des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Retinitis Pigmentosa Patienten

Die direkte Gegenüberstellung des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa war bisher kein Bestandteil früherer Studien. Die Verwendbarkeit der zwei Methoden für die Kontrolle des Verlaufs von Retinitis Pigmentosa wurde aber bereits in einigen Studien bestätigt. Bei Seeliger et al. (1998) fand eine Untersuchung des diagnostischen Potentials des multifokalen ERGs für die Beurteilung der Netzhauterkrankung bei Retinitis Pigmentosa statt. Es wurden 38 Patienten in ihre Arbeit einbezogen. Die Kriterien für die Teilnahme an der Studie waren entweder eine ableitbare photopische Ganzfeld-ERG Antwort oder ein erhaltenes Gesichtsfeld von mindestens 10° oder mehr. Bei 27 von 38 Patienten konnte zumindest eine zentrale multifokale Antwort registriert werden. Der Verlust der Antwortdichte des multifokalen ERGs bei Patienten mit RP war in allen fünf Ringen der Ringgruppenanalyse signifikant. In der Studie wurden exzentritätsabhängige, typische Veränderungen in der Amplitude und der Gipfelzeit beobachtet. Da das multifokale Elektretinogramm zwischen betroffenen und nicht betroffenen Netzhautstellen unterscheidet, kann es zusätzliche Informationen bei der Diagnose von vielen Patienten mit Retinitis Pigmentosa liefern. Aus der Sicht von Seeliger und Kollegen kann das multifokale ERG die Diagnostik mit konventioneller Elektrophysiologie ergänzen.

Die Studie von Hood et al. (1998) zeigte genauso die Fähigkeit des mfERGs im Rahmen einer fortgeschrittenen RP retinale Zapfendysfunktionen darzustellen und eine beträchtliche diagnostische Vervollständigung zu gewährleisten.

Palmowski und Kollegen (2001) sind ebenfalls der Meinung, dass das multifokale ERG zur Anwendung bei der Verlaufsdokumentation geeignet ist und nicht nur zur Diagnostik der Krankheit genutzt werden sollte.

Durch die Langzeitstudie von Nagy et al. (2008) wird die Ansicht von Palmowski und der anderen Beteiligten zusätzlich bekräftigt. Das multifokale ERG zeigte in ihrer Arbeit genauso den immensen Nutzen beim Einsatz zur Kontrolle der Entwicklung der Augenkrankheit bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa. Bei den Patienten der Studie von Nagy und Kollegen konnten mit dem mfERG zuverlässige Antworten gemessen werden, auch wenn das Ganzfeld-ERG nicht registrierbar war. Eine weitere Beobachtung war, dass die Amplitude der mfERG-Antwort einem vergleichbaren exponentiellen Zerfall wie das Gesichtsfeld folgt. Die wichtigste Aussage der Studie war, dass das mfERG eine Langzeit-Verlaufskontrolle des Fortschreitens der Erkrankung bei Retinitis Pigmentosa erlaubt. Das multifokale ERG ersetzt nicht, sondern ergänzt, die psychophysischen Methoden und könnte als ein objektives

Messverfahren in den kommenden Behandlungsstudien bei Patienten mit fortgeschrittenen Netzhauterkrankungen eingesetzt werden.

Muster-ERG Antworten bei RP-Patienten wurden von Hawlina et al. (1998) analysiert. Sie untersuchten 15 Patienten in verschiedenen Stadien der Krankheit und unterschiedlichen Graden des konzentrischen Gesichtsfeldverlustes. So konnten sie feststellen, ob das Muster-ERG für die Nutzung bei der Verlaufskontrolle geeignet ist, wenn die Blitz-ERG Antworten bereits nicht messbar sind. Hawlina et al. halten es bei der Ableitung von Muster-ERGs bei RP für notwendig, dass die Patienten noch einen relativ guten Visus aufweisen (Hawlina et al., 1998). Ihre Ergebnisse wurden leider nicht in einem wissenschaftlichen Journal veröffentlicht. In ihrem Kongressbeitrag fassten sie jedoch zusammen, dass das Muster-ERG ein nützliches, elektrophysiologisches Hilfsmittel zur Überwachung der Netzhautfunktion bei RP-Patienten bietet. Lediglich Janáky et al. (2008) bezweifeln in ihrer Studie von 2008 den Nutzen dieser Methode in der klinischen Verlaufskontrolle von RP-Patienten, da sie einen eher geringen Prozentsatz der erfolgreichen Muster-ERG Ableitungen fanden. Dieses Ergebnis resultierte, obwohl bei der Studie eine große Anzahl an Patienten teilnahm und Patienten mit einem Visus unter 0,02 ausgeschlossen wurden. Nur bei 17 von 53 Patienten konnten reproduzierbare Muster-ERG Antworten aufgenommen werden.

Aus den Daten der bisherigen Studien konnte also darauf geschlossen werden, dass beide Methoden für die Verlaufskontrolle bei Retinitis Pigmentosa geeignet sind. Bei der vorliegenden Arbeit sollte zusätzlich aber herausgefunden werden, ob eines der Verfahren bessere Messergebnisse liefert. Besteht also die Möglichkeit, mit einer Methode Antworten zu registrieren, wenn mit dem anderen Verfahren keine Ableitung mehr möglich ist?

Für die statistische Auswertung der Messdaten der RP-Patienten kam der McNemar-Test zum Einsatz. Der Grund für den Einsatz waren die sehr niedrigen Amplitudenwerte der Patientenmessungen. Deshalb war keine Korrelationsanalyse wie im Vorversuch möglich. Beim McNemar-Test wurden die Nichtübereinstimmungen der Stichproben ausgewertet. Die Daten des rechten und linken Auges wurden zusammen ausgewertet und die Daten der zwei Karogrößen hingegen separat. Somit gab es zwei Stichproben bei denen für jede ein χ^2 berechnet wurde. Eine Stichprobe ergab ein $\chi^2 = 0$ und ein $p = 1,0$. Bei der anderen Probe betrug $\chi^2 = 0,8$ und $p = 0,37$. Also konnte die Nullhypothese „Die beiden Methoden messen bei RP-Patienten gleich gut bzw. schlecht“ bei beiden Stichproben nicht widerlegt werden. Die Resultate des McNemar-Tests deuten nicht darauf hin, dass eine der beiden Verfahren bei RP-Patienten besser misst. Da an dieser Stelle die Messergebnisse interpretiert werden, sollte man nochmals anmerken, dass die Bedingungen für die Prüfung der Daten mit dem McNemar-Test nicht komplett gegeben waren. Die ermittelten Häufigkeiten waren nämlich

in keiner Stichprobe größer als 5. Der McNemar-Test wurde dennoch benutzt, um zu überprüfen, ob zumindest ein Hinweis über die bessere Eignung zur Verlaufskontrolle bei einem der Verfahren zu erkennen ist.

Im Folgenden werden die Gründe für die Ergebnisse der vorliegenden Studie diskutiert. Als erstes ist die geringe Anzahl der Patienten zu nennen. Natürlich gibt es auch Studien mit wenigen Teilnehmern, die wichtige Erkenntnisse liefern können, jedoch können die Studienergebnisse eventuell nicht repräsentativ genug oder von geringer Signifikanz sein. Der Grund für die geringe Anzahl der Teilnehmer bei dieser Arbeit ist die Tatsache, dass es schwer war, an ausreichend RP-Patienten zu kommen. Außerdem gibt es allgemein nicht viele Betroffene in Deutschland, obwohl diese Augenerkrankung zu den häufigsten Gründen für eine Erblindung zählt. Ein weiterer wichtiger Punkt ist die Tatsache, dass RP-Patienten selten in eine Augenklinik kommen. Da bisher keine kausale Therapie für Retinitis Pigmentosa existiert, stellen sich die Patienten lediglich zur Diagnose in einer Klinik vor. Ansonsten sind sie höchstens bei einem niedergelassenen Augenarzt anzutreffen. Die Rekrutierung der RP-Patienten erfolgte hauptsächlich über die Low Vision Abteilung der Augenklinik. Die Zusammenarbeit mit dem Blindenbund und mit der Vereinigung Pro Retina erwiesen sich als nicht besonders vorteilhaft, da es sich hier um Betroffene handelt, bei denen in den meisten Fällen bereits keine Restfunktion des Sehens mehr erhalten ist. Wie man Kapitel 4.1.2 entnehmen kann, konnten nur Patienten für diese Studie gewonnen werden, die sich in einem stark fortgeschrittenen Stadium befanden. Zu begründen ist dies dadurch, dass Betroffene, bei denen die Erstdiagnose erst kürzlich erfolgte, den Schock über so eine Nachricht erst überwinden müssen. Patienten bei denen der Befund länger feststeht und die Krankheit schon einen starken Einfluss auf das Sehen genommen hat, erklären sich eher für die Teilnahmen an solch einer Studie bereit, da sie Hoffnung auf neue Therapieansätze haben. An der vorliegenden Studie waren deshalb sehr viele Patienten beteiligt, bei denen die Sehschärfe zwischen 0,01 und 0,5 lag. Die Prüfung des Gesichtsfeldes zeigte bei den meisten Patienten ein Restgesichtsfeld von unter 30° oder sogar unter 15°. Lediglich bei 8 von 28 Augen war überhaupt eine signifikante Ableitung der Muster-ERG Antworten möglich. Beim multifokalen ERG waren es sogar nur 5 von 28 Augen. Der geringe Prozentsatz der signifikanten Antworten erklärt die geringen Fallzahlen in den Zellen b und c des McNemar-Tests (s. Tabelle 3.3). Dadurch konnte die Voraussetzung, dass die Häufigkeiten b und c größer fünf sind, nicht realisiert werden (s. Kapitel 3.9.2). Die Kriterien dafür, ob eine Antwort als registrierbar gezählt werden konnte oder nicht, wirkten sich wahrscheinlich auch negativ auf die Anzahl der Nichtübereinstimmungen in den Zellen b und c aus. Beim Muster-ERG entschied darüber das erreichte Signifikanzniveau der steady-state Antworten. Nur wenn die Antwort signifikant war, also $p < 5\%$, wurde

die Messung in die Felder der Nichtübereinstimmungen des McNemar-Tests aufgenommen (Kapitel 3.9.2). Das linke Auge von Patient 1 erfüllte zwar dieses Kriterium, hatte aber eine sehr kleine Amplitude beim transienten PERG. Das war gleichermaßen bei Patient 11 der Fall. Beim multifokalen ERG war das Kriterium, dass das Signal über das Hintergrundrauschen hinaus gehen musste. Des Weiteren musste die Kurvenform bzw. der Kurvenverlauf Ähnlichkeit zu denen einer Normalperson aufweisen (s. Kapitel 3.9.2). Bei Patient 6 und 14 war die Auswertung besonders schwierig. Vermutlich war bei beiden Patienten beim linken Auge noch eine Antwort im mfERG da, diese ging jedoch nicht über das Hintergrundrauschen und konnte deshalb nicht als signifikant gewertet werden. Dies könnte demnach auch der Grund für die Tendenz, dass das Muster-ERG „besser“ misst, sein. Bei den Messungen konnte eine schlechte Ableitung aufgrund unzureichender Transparenz der optischen Medien oder eine ungenügende Korrektur eines bestehenden Refraktionsfehlers ausgeschlossen werden. Eine signifikante Antwort konnte bei kleinen Karos nämlich häufiger registriert werden als bei großen Karos.

Wenn man die Zusammenhänge zwischen den elektrophysiologischen Methoden und der Perimetrie sowie der Fundusautofluoreszenz betrachtet, lässt sich eine leichte Tendenz erkennen. Einige Patienten, bei denen zumindest bei einer der zu vergleichenden Methoden eine signifikante Antwort ableitbar war, hatten ein erhaltenes Gesichtsfeld zwischen 30° und 15°. In der FAF-Untersuchung konnte man Folgendes beobachten. Bei Patienten, bei denen das Zentrum noch nicht betroffen ist und ein Durchmesser dieses Bereichs angegeben werden konnte, war eine Ableitung zumindest mit einem der beiden elektrophysiologischen Verfahren möglich. Eine eindeutige Korrelation zwischen den Untersuchungsverfahren lässt sich bei den vorliegenden Daten jedoch nicht bestätigen.

5.3 Schlussfolgerung

Aus den Daten ist ein Trend ersichtlich, dass mit dem Muster-ERG bei mehr Patienten Antworten registrierbar waren als mit dem multifokalen ERG. Eine eindeutige Aussage über die bessere Eignung der beiden elektrophysiologischen Methoden für die Verlaufskontrolle bei RP-Patienten kann nicht getroffen werden. Eine weitere Studie wäre aus diesem Grund sinnvoll. Außerdem sollte ebenfalls nochmal die Korrelation zwischen den beiden elektrophysiologischen Methoden analysiert werden, da im Rahmen dieser Arbeit ein Vorliegen eines linearen Zusammenhangs nicht endgültig geklärt werden konnte. Empfehlenswert wäre bei einer weiteren Studie ein größeres Kollektiv an Probanden in die Studie zu involvieren. Des Weiteren sollte für eine bessere Altersverteilung gesorgt werden.

Einige Empfehlungen für eine weitere Studie zur Klärung der Frage, welche der beiden elektrophysiologischen Methoden besser für die Verlaufskontrolle bei RP geeignet ist, konnten aus den Erfahrungen der vorliegenden Arbeit gewonnen werden. Für die Rekrutierung der Patienten wäre die Zusammenarbeit mit niedergelassenen Augenärzten und anderen Augenkliniken empfehlenswert. Eine weitere Möglichkeit, geeignete Probanden für eine Studie zu gewinnen, bietet eventuell das Berufsförderungswerk. Dieses ist ein berufliches Bildungszentrum für erwachsene Blinde und Sehbehinderte. Da hier auch Sehbehinderte eine Umschulung aufgrund ihrer Erkrankung machen, ist die Chance wahrscheinlich größer, hier auf Betroffene zu treffen, bei denen die Retinitis Pigmentosa noch keine starken Schäden bewirkt hat. Ein weiterer Vorschlag wäre eine Langzeitstudie mit RP-Patienten zu machen. Bei solch einer Studie könnte man die selben Patienten über einen längeren Zeitraum mehrmals untersuchen. Durch eine Langzeitstudie könnten die Patienten bei einer Erstvorstellung in der Klinik zur Diagnosesicherung, gleich mit dem mfERG und dem Muster-ERG gemessen werden. So könnte man die Daten sammeln und anschließend auswerten.

Wichtig ist es auch, entsprechende Kriterien bei der Auswahl der Patienten für eine ähnliche Studie zu bestimmen. Diese Empfehlung wird bekräftigt durch die Ergebnisse der Studien von Seeliger et al. (1998), Janáky et al. (2008) und Hawlina et al. (1998). Es sollten Ausschlusskriterien gewählt werden in Bezug auf die erhaltene Sehschärfe, das vorhandene Rest Gesichtsfeld oder ein ableitbares Ganzfeld-ERG. Des Weiteren sollten zusätzliche Krankheiten, wie ein Nystagmus oder eine AMD, vorher ausgeschlossen werden. Bei der vorliegenden Arbeit wurden Patienten, die zusätzliche Erkrankungen wie einen Nystagmus haben, aufgrund der niedrigen Teilnehmerzahl trotzdem in die Studie miteinbezogen.

Eventuell ist ein kombinierter Einsatz des Muster-ERGs und des multifokalen ERGs die beste Variante, die Verlaufsentwicklung bei Retinitis Pigmentosa zu untersuchen. Hinweise auf eine Bestätigung dieser Vermutung liefert z.B. die Studie von Neveu et al. (2006), die sich mit dem Vergleich des Muster-ERGs und des multifokalen ERGs bei Patienten mit altersbedingter Makuladegeneration beschäftigte. Neveu und Kollegen kamen zu dem Ergebnis, dass beide Verfahren eine objektive Methode zur Messung der zentralen Netzhautfunktion im Verlauf der AMD liefern. Ein kombinierter Einsatz vom Muster-ERG und vom multifokalen ERG hat laut Neveu et al. einige Vorteile gegenüber jedem einzelnen Test. Wichtig ist aber, dass diese Fragestellung in Hinblick auf anstehende Entwicklungen von Therapiemöglichkeiten, wie z.B. einer Gentherapie, für Retinitis Pigmentosa Patienten weiter überprüft wird.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein direkter Vergleich zwischen dem multifokalen Elektroretinogramm und dem Muster-Elektroretinogramm durchgeführt. Die Elektrophysiologie ist bei der vererbaren degenerativen Netzhauterkrankung Retinitis Pigmentosa bisher nur in der Erstdiagnostik relevant. Bei der Diagnosesicherung kommt größtenteils das Ganzfeld-Elektroretinogramm zur Anwendung. Diese Methode misst Potentialänderungen in der Netzhaut, die als Antwort auf kurze Lichtreize entstehen. Elektroden zeichnen diese elektrische Antwort auf. Bei RP kann es aber schon in einem relativ frühen Stadium dazu kommen, dass kein signifikantes ERG mehr registriert werden kann. Aus diesem Grund scheint dieses Verfahren für die Verlaufskontrolle bei Retinitis Pigmentosa nicht in Frage zu kommen.

In Hinsicht auf sich entwickelnde Therapieansätze ist eine objektive Untersuchungsmethode für die Kontrolle des Fortschreitens dieser Erkrankung von großer Wichtigkeit. Eine Bewältigung des Problems soll mit dem multifokalen Elektroretinogramm und dem Muster-Elektroretinogramm möglich sein. Das mfERG bietet eine simultane Messung mehrerer Antworten an unterschiedlichen Netzhautstellen. Beim Muster-ERG werden Netzhautantworten mittels Kontrast generiert. Die abgeleiteten Antworten stellen die Aktivität der zentralen Netzhaut dar. Auch wenn das Ganzfeld-ERG bei Retinitis Pigmentosa schon relativ früh nicht mehr nachweisbar ist, können das mfERG und das PERG eine zentrale Restaktivität noch aufzeigen. Zahlreiche Studien, die in dieser Arbeit erwähnt werden, sollten die Eignung der beiden Verfahren für die Verlaufskontrolle bei RP-Patienten verdeutlichen.

Aktuell findet man noch keine Daten, in denen das PERG und das mfERG bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa verglichen werden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu analysieren, welche elektrophysiologische Untersuchungsmöglichkeit sich besser für die Verlaufskontrolle bei Patienten mit Retinitis Pigmentosa eignet. Vor der Klärung der zentralen Fragestellung wurde die Korrelation zwischen dem mfERG und dem PERG bei Normalpersonen getestet. Es wurden 9 Normalpersonen und 14 RP-Patienten mit dem multifokalen ERG und dem Muster-ERG gemessen. Für das Hauptexperiment wurden zusätzliche Untersuchungen durchgeführt, wie die Ableitung eines Ganzfeld-Elektroretinogramms, die Gesichtsfeldmessung und die Fundusautofluoreszenz.

Ausgewertet wurden die Daten des Vorversuchs mit der Korrelations- und Regressionsanalyse. Die Analyse des Hauptexperiments erfolgte mit dem McNemar-Test. Die Korrelationsanalyse bei den Normalpersonen ergab eine mittlere Korrelation ($r = 0,65$ und $r = 0,62$), die jedoch nicht eindeutig signifikant bestätigt wurde ($p = 0,056$ und $p = 0,077$). Das PERG war nur bei 8 von 28 Augen der Patienten messbar. Beim mfERG waren es nur 5 von 28 Augen. Das Ganzfeld-ERG war bei 13 von 14 Patienten nicht mehr nachweisbar. Das zentrale Restgesichtsfeld lag bei den meisten Patienten unter 30° . Lediglich 4 Patienten hatten noch nicht betroffene Bereiche in der Fundusautofluoreszenz. Der McNemar-Test konnte keine Antwort darüber liefern, welche der elektrophysiologischen Methoden besser misst.

Umfangreichere Studien sollten diese zwei Methoden der zentralen Fragestellung dieser Arbeit weiter untersuchen. Dafür sollte jedoch vorher eine Auswahl an Kriterien erfolgen, um geeignete Teilnehmer für solch eine Studie zu finden. Die Art der Patientenrekrutierung sollte wohl überlegt sein. So kann vermieden werden, dass hauptsächlich Patienten an der Studie teilnehmen, die sich in einem fortgeschrittenen Stadium befinden. Bis zu einer Klärung dieser Frage, ist die kombinierte Anwendung des multifokalen ERGs und des Muster-ERGs zu empfehlen.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Das Auge	2
2.2	Schichten der Netzhaut	4
2.3	Schematische Darstellung der Photorezeptoren	5
2.4	Dunkeladaptiertes Blitz-ERG	9
2.5	Helladaptiertes Blitz-ERG	10
2.6	mfERG eines gesunden Auges	12
2.7	Dreidimensionale Darstellung des mfERGs	13
2.8	PERG eines gesunden Auges	15
2.9	Schematische Darstellung der Gesichtsfeldmessung	18
2.10	Normales Gesichtsfeld bei kinetischer Perimetrie	19
2.11	FAF eines gesunden Auges	22
2.12	Fundusveränderungen bei Retinitis Pigmentosa	24
3.1	DTL-Faden-Elektrode	31
3.2	Elektrodenanbringung	32
3.3	Elektrodeposition	33
3.4	DTL-Faden-Elektrode beim Vorversuch	44
3.5	Veranschaulichung der Time Varying Filtering Methode	47
4.1	Darstellung der mfERG-Antworten von Patient 2	53
4.2	Darstellung der Muster-ERG Antworten von Patient 2	55
4.3	Fundusautofluoreszenz von Patient 2	57
4.4	Regressionsanalyse bei großen Karos	59
4.5	Regressionsanalyse bei kleinen Karos	60
6.1	Gesichtsfeld von Patient 2	81
6.2	Ganzfeld-ERG1 von Patient 2	82
6.3	Ganzfeld-ERG2 von Patient 2	83
6.4	Gesichtsfeld von Patient 3	84

6.5	Gesichtsfeld von Patient 4	85
6.6	Gesichtsfeld von Patient 5	86
6.7	Gesichtsfeld von Patient 10	87
6.8	Gesichtsfeld von Patient 13	88
6.9	Gesichtsfeld von Patient 14	89
6.10	Fundusautofluoreszenz von Patient 1	90
6.11	Fundusautofluoreszenz von Patient 3	91
6.12	Fundusautofluoreszenz von Patient 10	92
6.13	Fundusautofluoreszenz von Patient 14	93
6.14	Informationsblatt	94
6.15	Einverständniserklärung	95

Tabellenverzeichnis

3.1	Darstellung der Blitzintensitäten des Ganzfeld Q 450 SCX0 und des Nicolet Ganzfeld	37
3.2	Klassifikation der Gesichtsfeldausfälle	49
3.3	McNemar-Test Vierfeldertafel	50
4.1	Übersicht über alle Untersuchungen	56
4.2	McNemar-Test für das mfERG und das PERG bei großen Karos	61
4.3	McNemar-Test für das mfERG und das PERG bei kleinen Karos	62

Literaturverzeichnis

Alexandridis, E., Krastel, H. (1997). *Elektrodiagnostik in der Ophthalmologie: Ein Kompendium für den Augenarzt*. Springer-Verlag, Berlin.

Bach, M. (1996). Elektrodiagnostik in der Ophthalmologie-Wann welche Untersuchung und warum?. *Orthoptik Pleoptik*, 20, 5-22.

Bach, M., Hawlina, M., Holder, G.E., Marmor, M.F., Meigen, T., Vaegan & Miyake, Y. (2000). Standard for pattern electroretinography. International Society for Clinical Electrophysiology of Vision. *Doc Ophthalmol*, 101, 11-18.

Bach, M., Keller, U. (2003). Apparative Diagnostik in der Augenheilkunde-Elektrophysiologie: ERG, EOG, mfERG, PERG und VEP. In Kampik, A. & Grehn, F. (Hrsg.), *Augenärztliche Diagnostik*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 168-173.

Bach, M. & Meigen, T. (1999). Do's and don'ts in Fourier analysis of steady-state potentials. *Doc Ophthalmol*, 99, 69-82.

Bellmann, C., Holz, F.G., Schnapp, O., Völcker, H.E. & Otto, T.P. (1997). Topographie der Fundusautofluoreszenz mit einem neuen konfokalen Scanning-Laser-Ophthalmoskop. *Ophthalmologe*, 94, 385-391.

Berke, A. (1999). Biologie des Auges: Eine Einführung in die Anatomie und Physiologie des Auges. *Wissenschaftliche Vereinigung für Augenoptik und Optometrie e.V.(WVAO)*, Mainz.

Bland, J.M. & Altman, D.G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1, 307-310.

- Campbell, N.A. (1999). *Biologie*. Spektrum Verlag, Heidelberg.
- Dawson, W.W., Trick, G.L. & Litzkow, C.A. (1979). Improved electrode for electroretinography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 18, 988-991.
- Delori, F.C., Kathleen Dorey, C., Staurenghi, G., Arend, O., Goger, D.G. & Weiter, J.J. (1995). In Vivo Fluorescence of the Ocular Fundus Exhibits Retinal Pigment Epithelium Lipofuscin Characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 36, 718-729.
- Dithmar, S. & Holz, F.G. (2008). Fundusautofluoreszenz. In *Fluoreszenzangiographie in der Augenheilkunde*. (S. 32-55). Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
- Fels, G. (1967). *Der Sehvorgang: Eine Einführung in die Physiologie des menschlichen Gesichtssinnes*. Ernst Klett Verlag, Stuttgart.
- Grehn, F. (2008). *Augenheilkunde*. 30. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
- Hartong, D.T., Berson, E.L. & Dryja, T.P. (2006). Retinitis Pigmentosa. *Lancet*, 368, 1795-1809.
- Hawlina, M., Jarc, M., Popovic, P. & Brecelj, J. (1998). Pattern ERG in Follow-up of Retinitis Pigmentosa. *Abstract Book of the 36TH ISCEV SYMPOSIUM*. ATD Press, Hradec Králové. S.32.
- Holder, G.E. (2001). Pattern Electroretinography (PERG) and an Integrated Approach to Visual Pathway Diagnosis. *Prog Retin Eye Res*, 20, 531-561.
- Holder, G.E., Brigell, M.G., Hawlina, M., Meigen T., Vaegan & Bach M. (2007). ISCEV standard for clinical pattern electroretinography 2007 update. *Doc Ophthalmol*, 114, 111-116.
- Holz, F.G. (2001). Autofluoreszenz-Imaging der Makula. *Ophthalmologe*, 98, 10-18.
- Hood, D.C. (2000). Assessing Retinal Function with the Multifocal Technique. *Prog Retin Eye Res Vol.19*, 5, 607-646.

Hood, D.C., Bach, M., Brigell, M., Keating, D., Kondo, M., Lyons, J.S. & Palmowski-Wolfe, A.M. (2007). ISCEV Guidelines for clinical multifocal electroretinography (2007 edition). *Doc Ophthalmol*, 116, 1-11.

Hood, D.C., Holopigian, K., Seiple, W., Greenstein, V., Li, J., Sutter, E.E. & Carr, R.E. (1998). Assessment of Local Retinal Function in Patients with Retinitis Pigmentosa Using the Multi-focal ERG Technique. *Vis Res*, 38, 163-179.

Hubel, D.H. (1989). *Auge und Gehirn Neurobiologie des Sehens*. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft GmbH & Co., Heidelberg. (Im Original erschienen 1988: Eye, Brain, and Vision).

Janáky, M., Pálffy, A., Horváth, G., Tuboly, G. & Benedek, G. (2008). Pattern-reversal electroretinograms and visual evoked potentials in retinitis pigmentosa. *Doc Ophthalmol*, 117, 27-36.

Keilhauer, N. & Delori, F.C. (2006). Near-Infrared Autofluorescence Imaging of the Fundus: Visualization of Ocular Melanin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47, 3556-3564.

Kellner, U. (2004). Autofluoreszenz des retinalen Pigmentepithels. In Heimann, H., Kellner, U. & Foerster, M.H. (Hrsg.), *Angiographie-Atlas des Augenhintergrunds*. (S.14-15). Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Kellner, U. & Wachtlin, J. (2008). *Retina Diagnostik und Therapie der Erkrankungen des hinteren Augenabschnitts*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Lai, T.Y.Y., Chan, W., Lai, R.Y.K., Ngai, J.W.S., Li, H. & Lam, D.S.C. (2007). The Clinical Applications of Multifocal Electroretinography: A Systematic Review. *Surv Ophthalmol*, 52, 61-96.

Lang, G.K. (2004). *Augenheilkunde: Verstehen-Lernen-Anwenden*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Langrova, H., Seeliger, M.W., Kretschmann, U., Dietrich, T.J., Besch, D. & Zrenner, E. (1998). Age dependence of multifocal ERG amplitude and implicit time. *Abstract Book of the 36th ISCEV SYMPOSIUM*. ATD Press, Hradec Králové.

- Marmor, M.F., Fulton, A.B., Holder, G.E., Miyake, Y., Brigell, M. & Bach, M. (2008). ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update). *Doc Ophthalmol*, 118, 69-77.
- Meigen, T. & Bach, M. (2000). On the statistical significance of electrophysiological steady-state responses. *Doc Ophthalmol*, 98, 207-232.
- Meigen, T. & Heine, M. (2001). Verkürzung von Muster-ERG-Ableitungen durch „Time Varying Filtering“. *Ophthalmologe*, 98, 1162-1168.
- Nagy, D., Schönfisch, B., Zrenner, E. & Jägle, H. (2008). Long-Term Follow-up of Retinitis Pigmentosa Patients with Multifocal Electroretinography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 49, 4664-4671.
- Neveu, M.M., Tufail, A., Dowler, J.G. & Holder, G.E. (2006). A comparison of pattern and multifocal elctroretinography in the evaluation of age-related macular degeneration and its treatment with photodynamic therapy. *Doc Ophthalmol*, 113, 71-81.
- Palmowski, A.M., Allgeyer, R., Heinemann-Vernaleken, B., Scherer, V., Eich, W. & Ruprecht, K.W. (2001). Differenzierte Untersuchung der Netzhaut bei regionaler Retinitis Pigmentosa mit Hilfe des multifokalen Elektroretinogramms. *Ophthalmologe*, 98, 294-299.
- Popovic, P., Jarc-Vidmar, M. & Hawlina, M. (2005). Abnormal fundus autofluorescence in relation to retinal function in patients with retinitis pigmentosa. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 243, 1018-1027.
- Reim, M., Kirchhof, B. & Wolf, S. (2004). *Diagnosen am Augenhintergrund: Vom Befund zur Diagnose*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Roberta, A. & Pagon, M.D. (1988). Major Review Retinitis Pigmentosa. *Surv Ophthalmol*, 33, 137-177.
- Rüdiger, W. (1982). *Der Gesichtssinn-neurophysiologische Grundlagen*. VEB Georg Thieme, Leipzig.

Rüther, K., Becker, R. (2008). Elektrophysiologie. In Kroll, P., Küchle, M. & Küchle, H.J. (Hrsg.), *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. (3., durchges. Auflage, S.567-590). Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Sachs, L. (2004). *Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden*. (11., überarbeitete und aktualisierte Auflage. Springer-Verlag, Berlin/ Heidelberg.

Seeliger, M., Kretschmann, U., Apfelstedt-Sylla, E., Ruther, K. & Zrenner, E. (1998). Multifocal Electroretinography in Retinitis Pigmentosa. *Amer. J. Ophthalmol*, 125, 214-226.

Schiefer, U., Pätzold, J., Krapp, E., Dannheim, F., Artes, P.H. (2008). Perimetrie. In Kroll, P., Küchle, M. & Küchle, H.J. (Hrsg.), *Augenärztliche Untersuchungsmethoden*. (3., durchges. Aufl., S.112-137). Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Sugawara, T., Hagiwara, A., Hiramatsu, A., Ogata, K., Mitamura, Y. & Yamamoto, S. (2010). Relationship between peripheral visual field loss and vision-related quality of life in patients with retinitis pigmentosa. *Eye*, 24, 535-539.

Sutter, E.E. & Tran, D. (1992). The Field Topography of ERG Components in Man - I. The Photopic Luminance Response. *Vis Res*, 3, 433-446.

Wollschläger, D. (2010). *Grundlagen der Datenanalyse mit R: Eine anwendungsorientierte Einführung*. Springer-Verlag, Berlin/ Heidelberg.

Zrenner, E. (2002). Will Retinal Implants Restore Vision?. *Science*, 295, 1022-1025.

Zrenner, E., Stett, A., Weiss, S., Aramant, R.B., Guenther, E., Kohler, K., Milczek, K.D., Seiler, M.J., Haemmerle, H. (1999). Can subretinal microphotodiodes successfully replace degenerated photoreceptors?. *Vis Res*, 39, 2555-2567.

Anhang

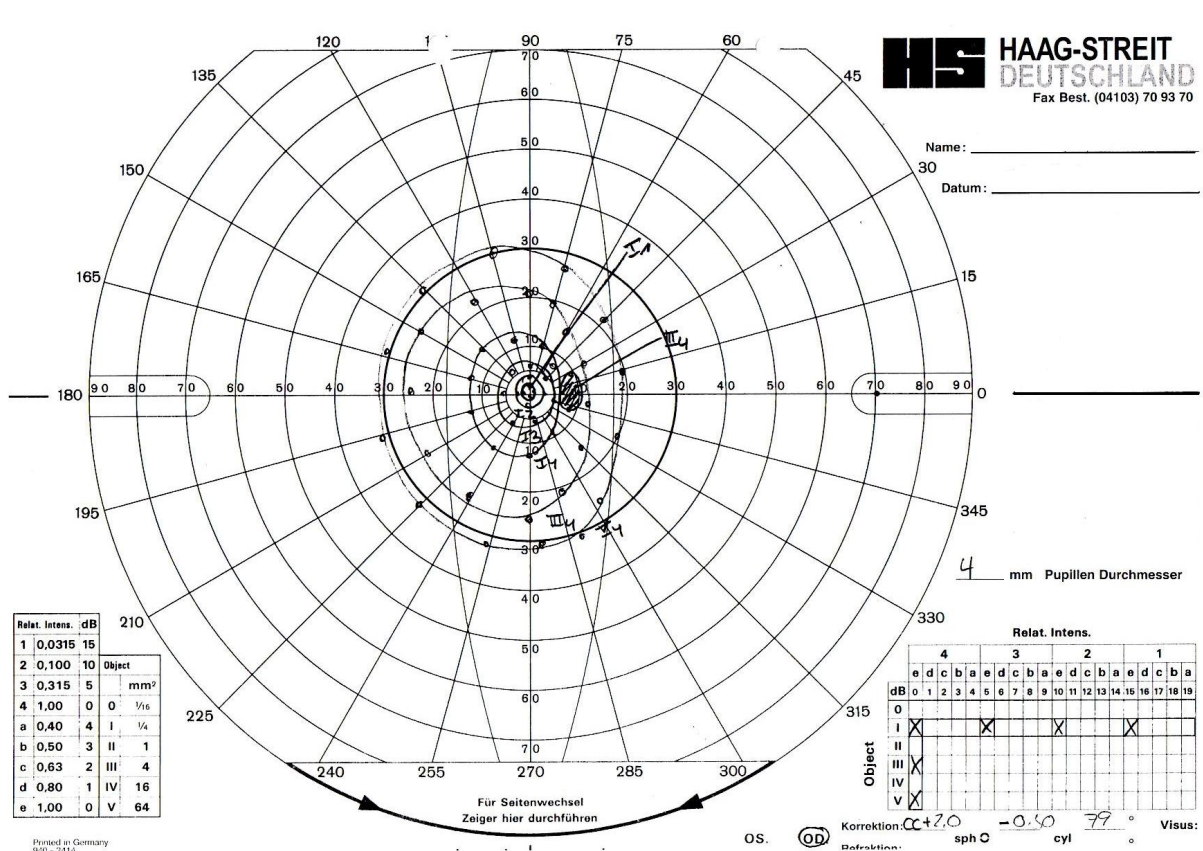


Abbildung 6.1: **Gesichtsfeld von Patient 2:** Patient 2 hatte eine Sehschärfe von $V = 1,0$. Das Ganzfeld-ERG war reduziert. PERG und mfERG waren beide ableitbar. Die FAF zeigte keine pathologischen Veränderungen. Die Gesichtsfeldprüfung erfolgte mittels kinetischer Perimetrie mit dem Goldmann-Perimeter. Der Gesichtsfeldverlust des rechten Auges wurde als Stufe 4 klassifiziert. Das Gesichtsfeld zeigt eine für RP charakteristische Einengung aus der Peripherie. Es ist ein Restgesichtsfeld von ca. 30° erhalten. Bei der Gesichtsfeldmessung wurden die Testmarken I1, I2, I3, III4 und V4 verwendet.

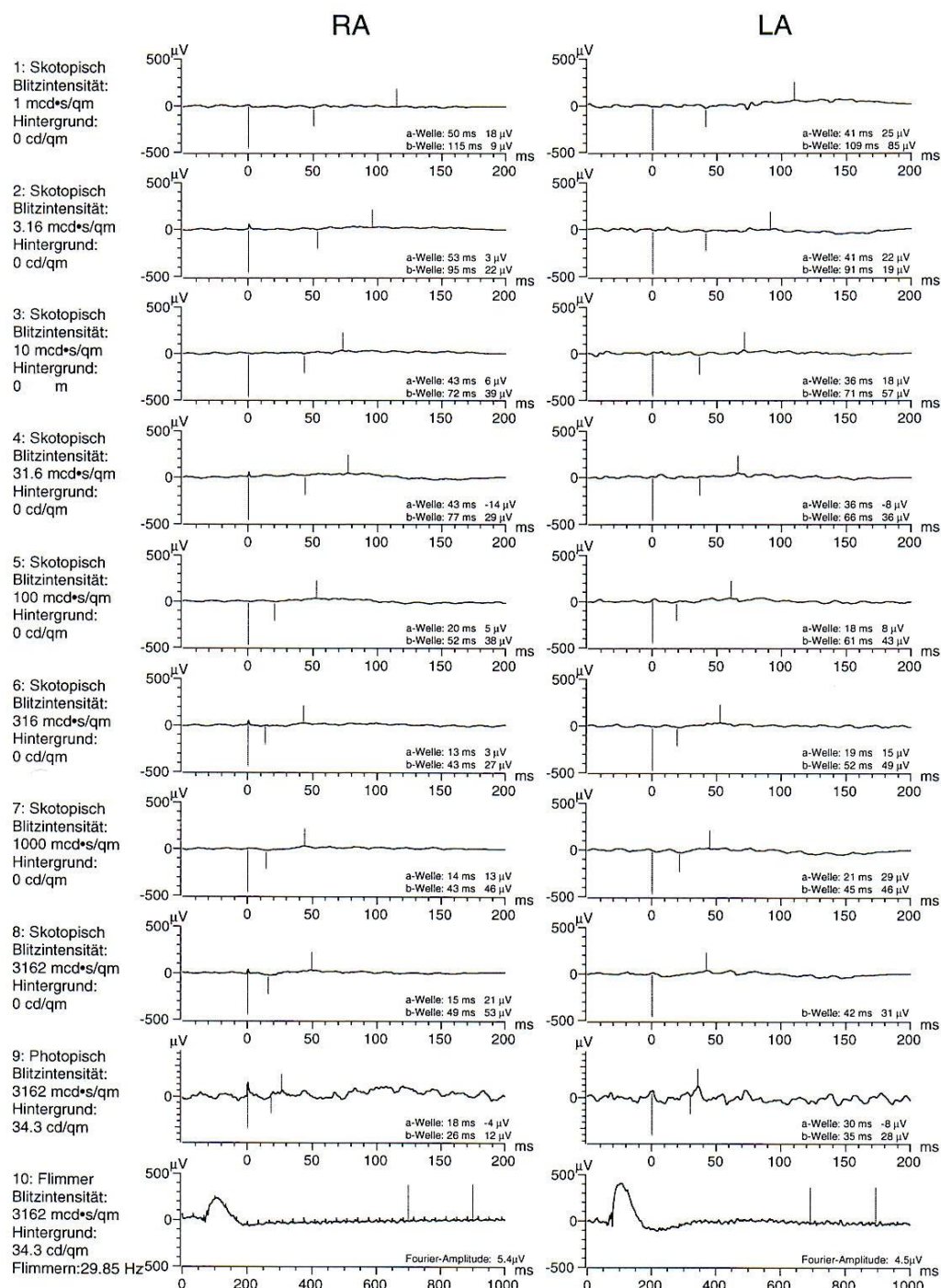


Abbildung 6.2: **Ganzfeld-ERG1 von Patient 2:** Darstellung der elektrischen Antworten der Blitz-ERG Messung des rechten und linken Auges. Es sind ERG-Kurven bei 8 verschiedenen, von oben nach unten ansteigenden Blitzintensitäten, zu sehen. Diese ersten 8 Ableitungen stellen das skotopische Blitz-ERG dar. Die unteren zwei Antworten stehen für das photopische Blitz-ERG, wobei Nr.10 die Flimmerantwort ist. Das skotopische und das photopische ERG sind bei Patient 2 noch nicht erloschen, aber deutlich reduziert.

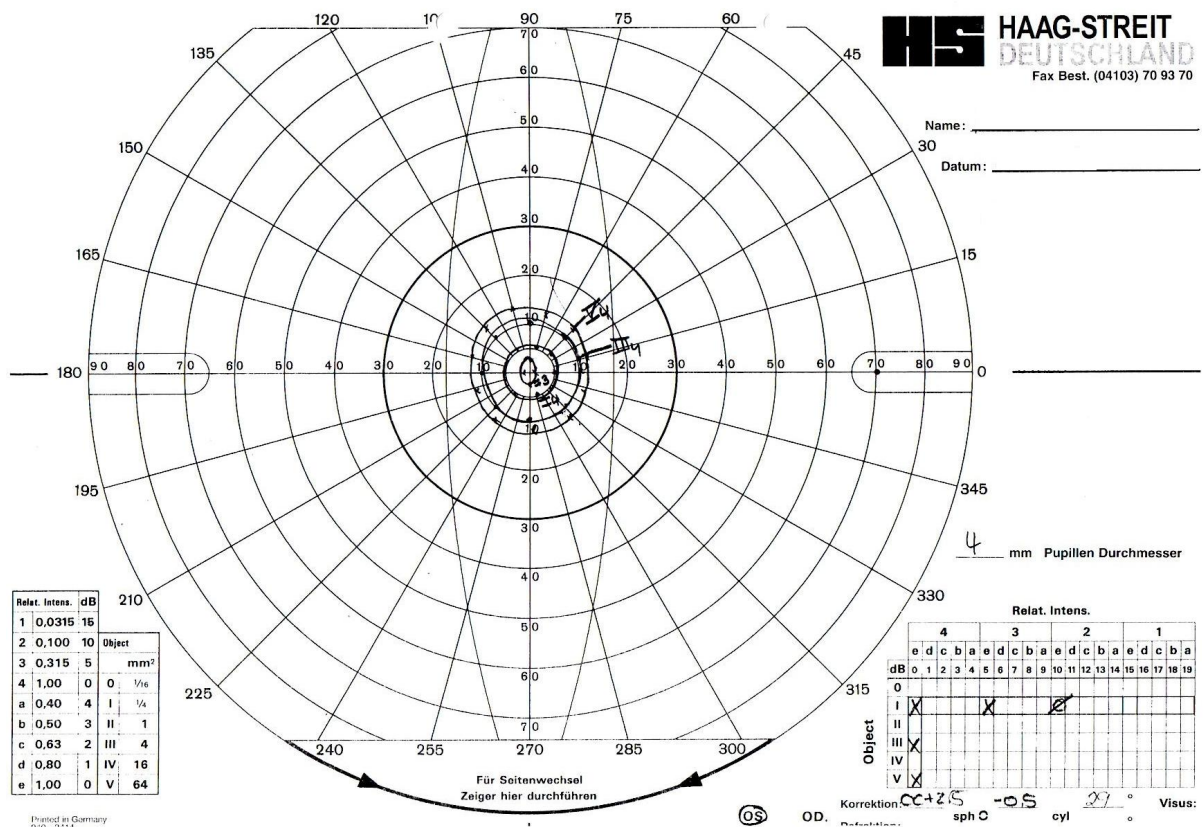


Abbildung 6.4: **Gesichtsfeld von Patient 3:** Der Visus von Patient 3 lag bei $V = 0,13$. Das Ganzfeld-ERG war erloschen. Eine signifikante Ableitung des mfERG sowie des PERG war nicht mehr möglich. Die FAF zeigte keine erhaltene Restfunktion der Netzhaut. Das Gesichtsfeld war auf beiden Augen mit der Stufe 6 klassifiziert. Das vorliegende Gesichtsfeld ist vom linken Auge. Bei der Gesichtsfeldprüfung wurde mit den Lichtmarken I2, I3, I4, III4 und V4 gearbeitet. Das restliche Gesichtsfeld ist ziemlich eingeschränkt und liegt innerhalb von 15° .

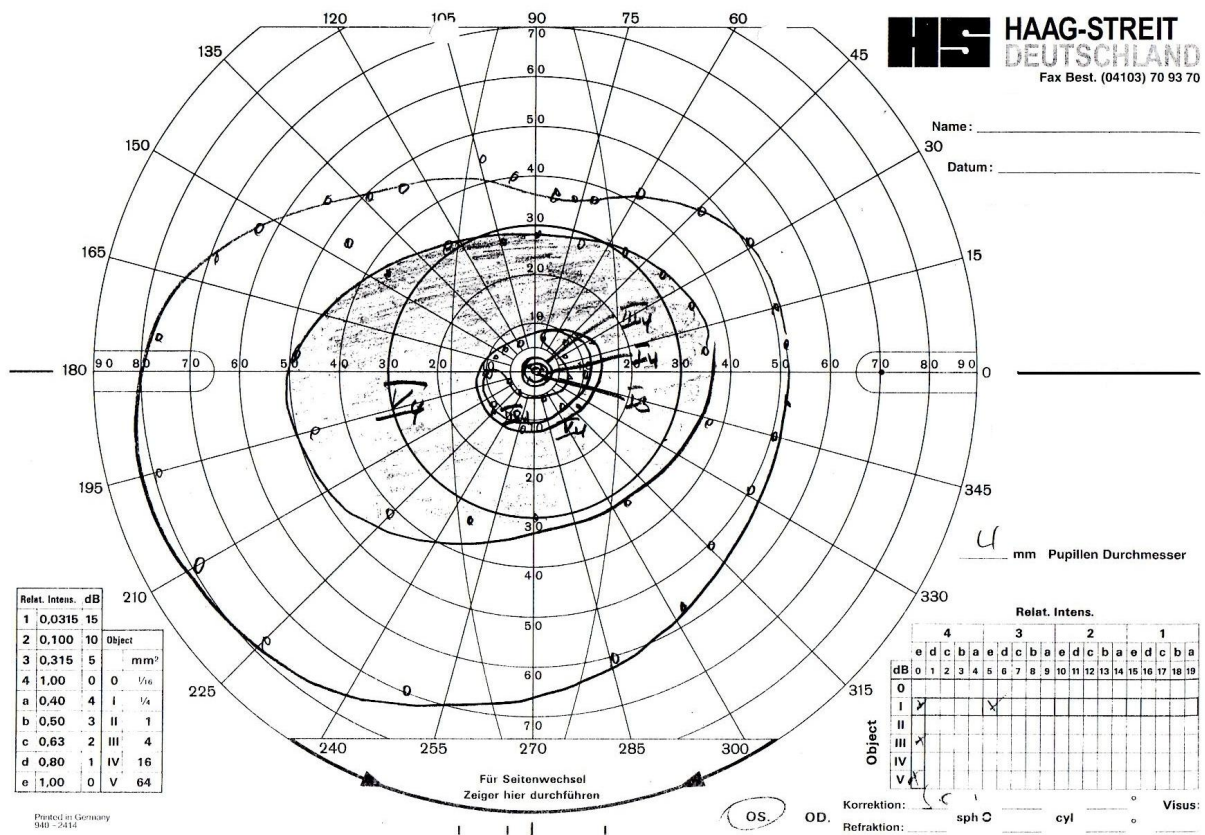


Abbildung 6.5: **Gesichtsfeld von Patient 4:** Die Sehschärfe betrug rechts $V = 0,5$ und links $0,63$. Das Ganzfeld-ERG war nicht mehr nachweisbar. Bei den weiteren elektrophysiologischen Messungen war nur beim mfERG beim linken Auge eine signifikante Antwort registrierbar. Die FAF wies einen kleinen Bereich auf, der keine Symptome zeigte. Die Perimetrie wurde mit der Stufe 2 klassifiziert. Man kann ein Ringskotom erkennen. Es wurden bei der Messung die Lichtmarken I3, I4, III4 und V4 eingesetzt.

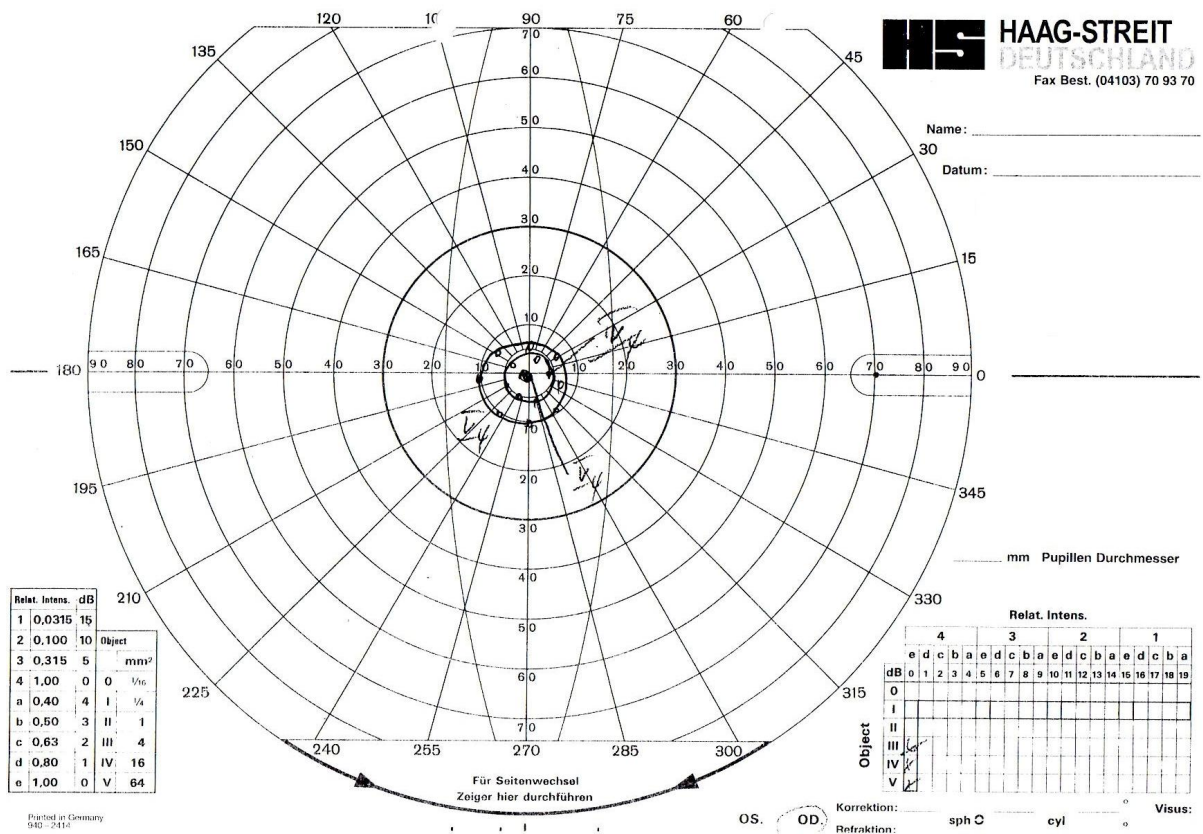


Abbildung 6.6: **Gesichtsfeld von Patient 5:** Die Sehschärfe betrug rechts und links $V = 0,01$. Das Ganzfeld-ERG war nicht mehr nachweisbar. Bei den anderen elektrophysiologischen Messungen war keine signifikante Antwort messbar. Die FAF wies keine symptomfreien Bereiche auf. Das Gesichtsfeld wurde mit der Stufe 7 klassifiziert. Das verengte Gesichtsfeld lag innerhalb der zentralen 10° . Es wurden bei der Messung die Lichtmarken III4, IV4, und V4 eingesetzt.

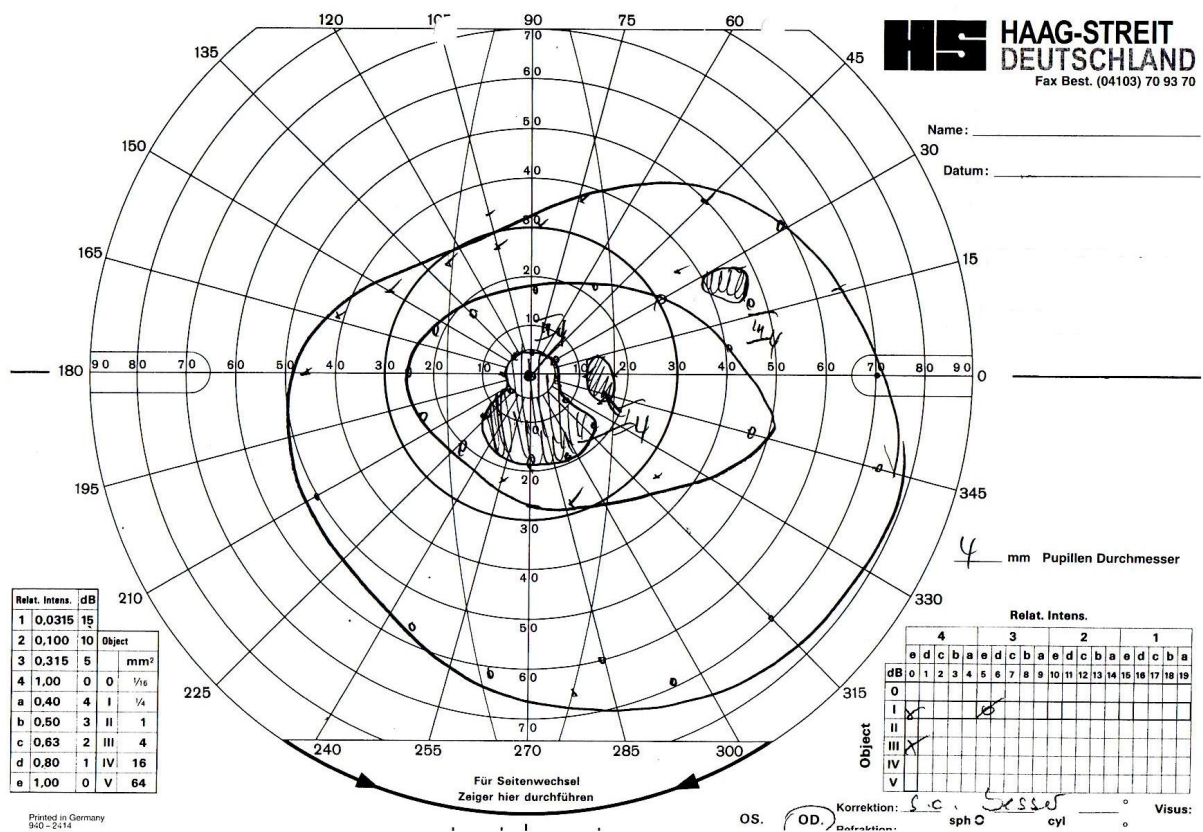


Abbildung 6.7: **Gesichtsfeld von Patient 10:** Patient 10 hatte eine Sehschärfe von $V = 0,05$. Das Ganzfeld-ERG war erloschen. PERG und mfERG waren beide nicht mehr signifikant ableitbar. Die FAF zeigte pathologische Veränderungen. Der Gesichtsfeldverlust bei der Augen wird mit der Stufe 1 klassifiziert. Es ist ein ein verengtes Gesichtsfeld mit zentrischen Skotomen zu sehen. Bei der Gesichtsfeldmessung wurden die Testmarken I3, I4 und III4 verwendet.

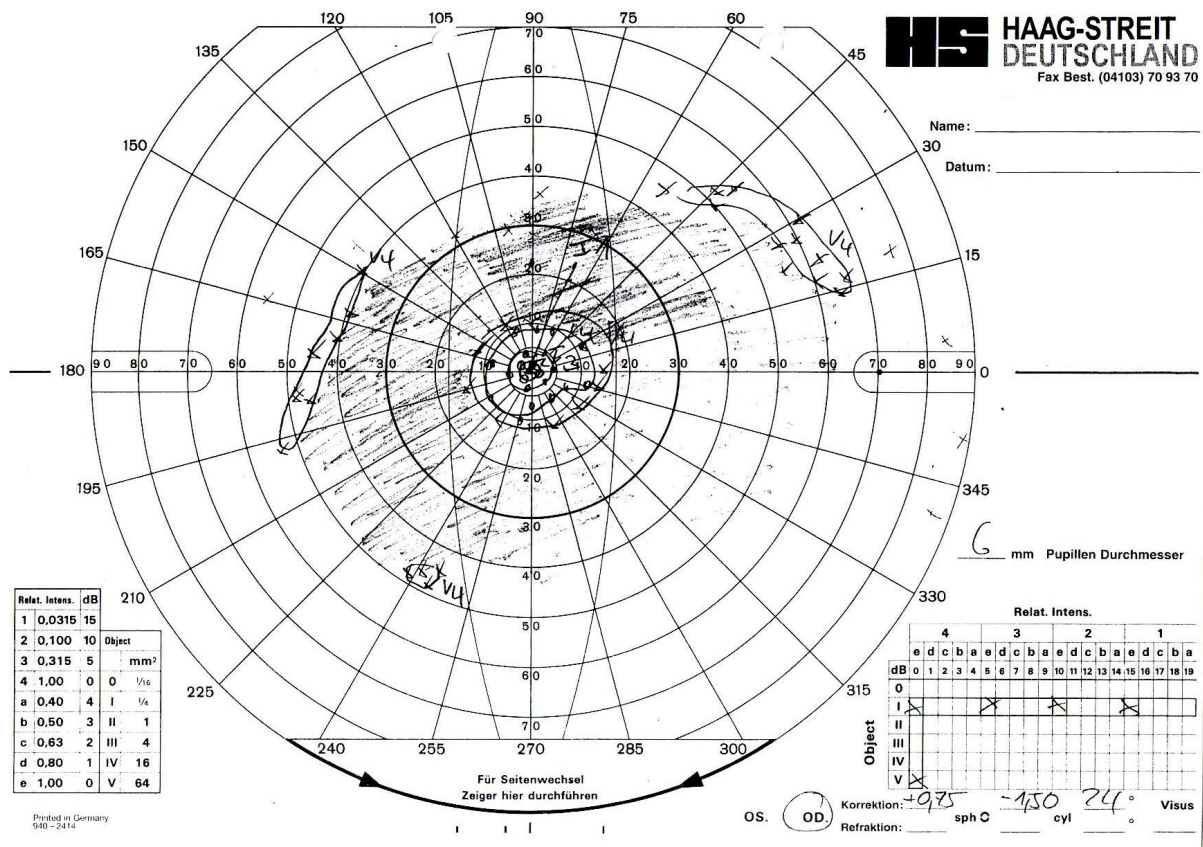


Abbildung 6.9: **Gesichtsfeld von Patient 14:** Patient 14 hatte einen Visus von $V = 0,5$ bei beiden Augen. Es konnten keine Antworten im Ganzfeld-ERG nachgewiesen werden. Das PERG lieferte auf beiden Augen und das mfERG nur links eine signifikante Ableitung. Bei der FAF war der zentrale Bereich noch nicht betroffen. Die Klassifikation des Gesichtsfeldes lag bei Stufe 5. Das Gesichtsfeld ist innerhalb der zentralen 15° verengt, weist aber noch periphere visuelle Inseln auf. Es kamen die Testmarken I1, I2, I3, I4 und V4 zum Einsatz.

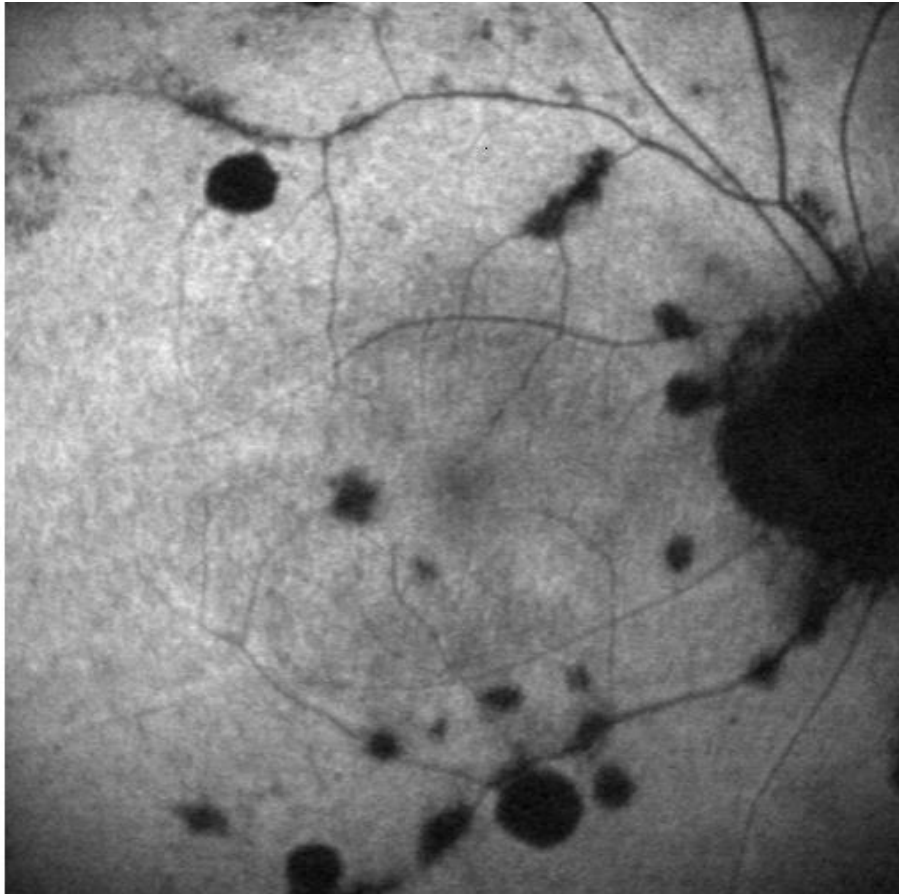


Abbildung 6.10: **Fundusautofluoreszenz von Patient 1:** Bei Patient 1 sind im FAF-Bild einige schwarze defekte Inseln sichtbar. Am stärksten ist der Bereich des Sehnerven betroffen. Links im Bild erkennt man ein bogenförmiges Areal, wo eindeutig Lipofuszin-Ansammlungen aufleuchten. Dies gibt einen Hinweis darauf, dass dort gerade degenerative Prozesse stattfinden.

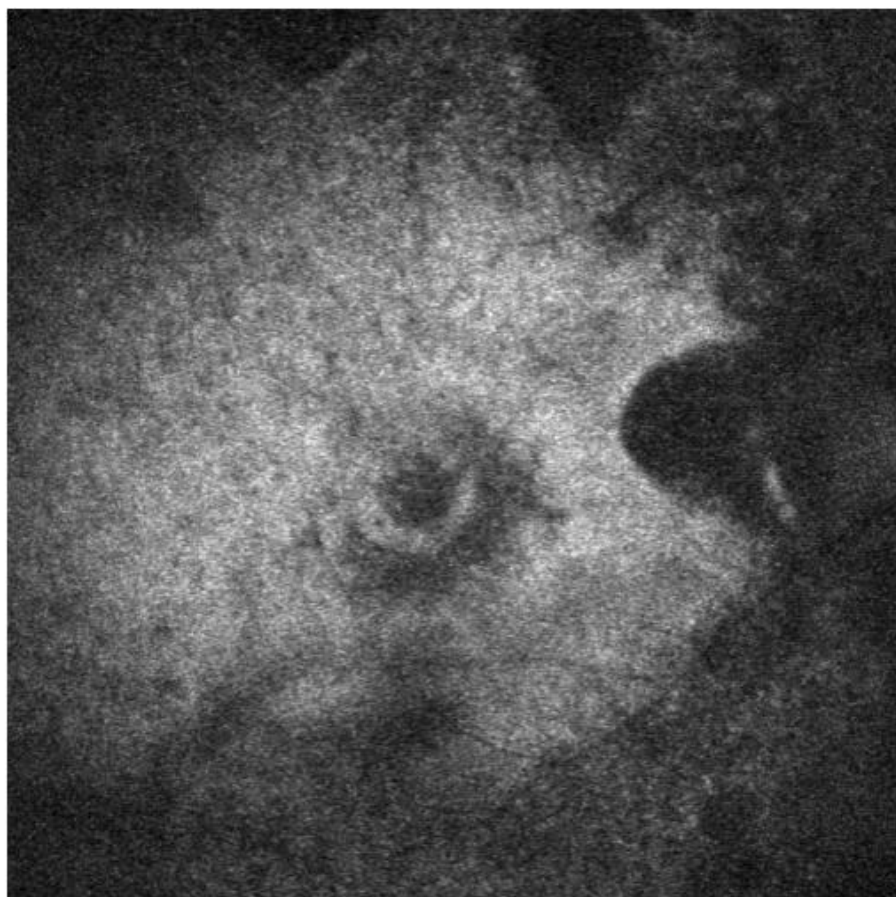


Abbildung 6.11: **Fundusautofluoreszenz von Patient 3:** Bei Patient 3 kann man keine eindeutigen Strukturen der Netzhaut mehr erkennen. Es sind vor allem in der Peripherie sehr viele dunkle Bereiche sichtbar. Zentral leuchten einige Areale, aufgrund von angesammeltem Lipofuszin, auf.

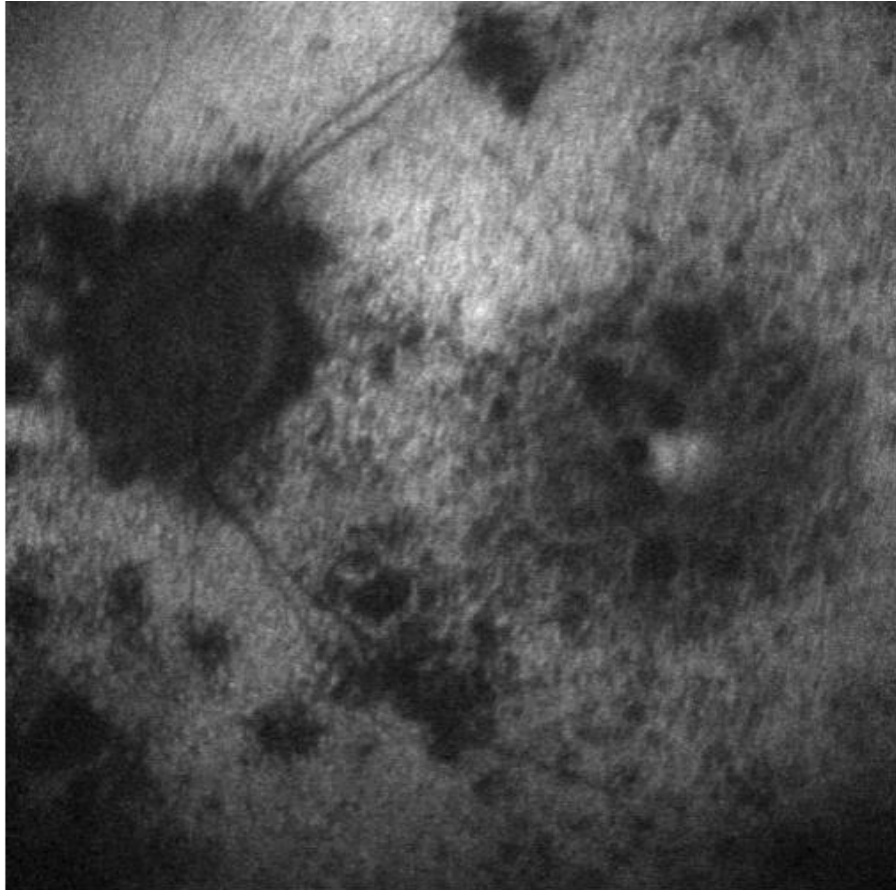


Abbildung 6.12: **Fundusautofluoreszenz von Patient 10:** In diesem Bild wird deutlich, dass bei Patient 10 die ganze Netzhaut bereits betroffen ist. Es sind viele schwarze Stellen zu sehen. Außerdem leuchtet vor allem bei ca. 12 Uhr im Bild Lipofuszin auf.

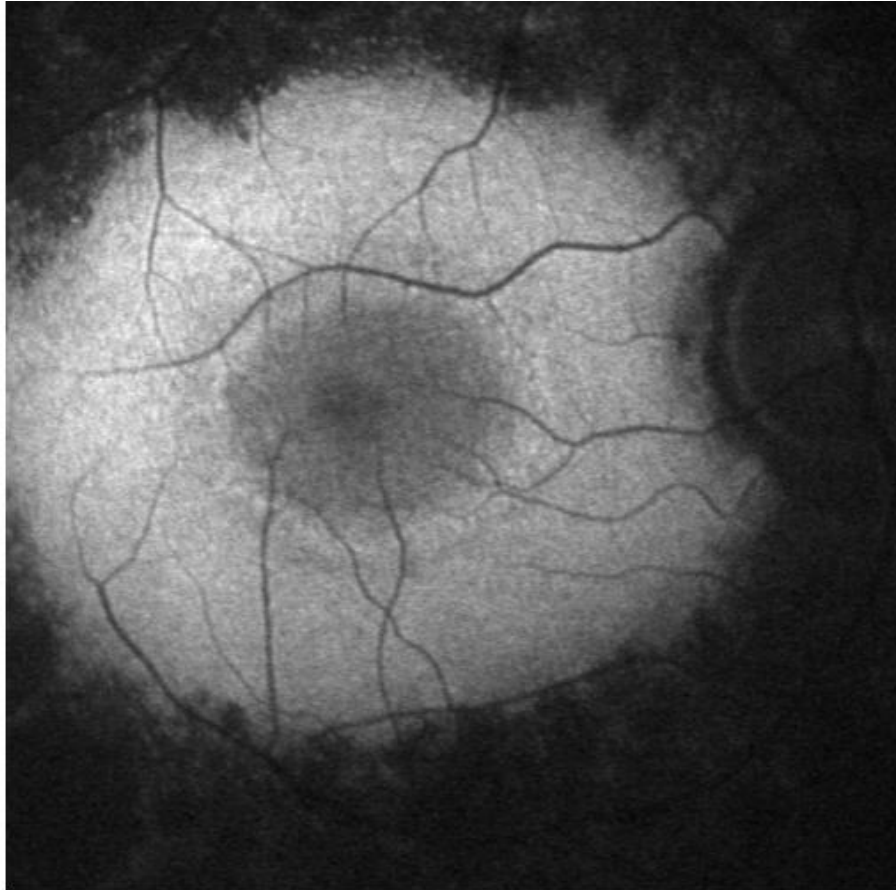


Abbildung 6.13: **Fundusautofluoreszenz von Patient 14:** Patient 14 zeigt ein FAF-Bild, wie man sich eine typische Fundusautofluoreszenz bei Retinitis Pigmentosa vorstellt. Die peripheren Bereiche sind degeneriert, was durch die schwarzen Stellen deutlich wird. Im Zentrum jedoch kann man noch keine pathologischen Prozesse sehen, da keine Lipofuszin-Ansammlungen zu erkennen sind.

Informationsblatt

Projekt: Vergleich zweier elektrophysiologischer Methoden zur Verlaufskontrolle im Krankheitsbild Retinitis Pigmentosa

Projektleiter: Dr. Th. Meigen, Universitäts.-Augenklinik, 97080 Würzburg

Versuchsleiterin: Kristina Gorte

Es wird ein Versuch im Rahmen des Projektes "Vergleich zweier elektrophysiologischer Methoden zur Verlaufskontrolle im Krankheitsbild Retinitis Pigmentosa" durchgeführt. Ziel dessen ist es, ein geeignetes elektrophysiologisches Messverfahren für die Verlaufskontrolle bei Retinitis Pigmentosa zu finden. Bei diesem Projekt werden das Muster-ERG, welches die Ganglienzell-Antwort misst und vor allem von den zentralen Netzhaut-Bereichen beeinflusst wird, und das multifokale ERG, das die Aktivität einzelner Gesichtsfeldbereiche anzeigt, miteinander verglichen. Außerdem sollen dabei gegebenenfalls die Reiz-Parameter dieser Methoden zusätzlich optimiert werden.

Zu diesem Zweck werden auf einem Bildschirm Muster angeboten, die keine regelmäßige Struktur aufweisen und sich schnell ändern. Aufgabe der Versuchsperson ist es, die Mitte des Bildschirms, die durch eine Marke gekennzeichnet ist, ruhig zu fixieren. Zusätzlich werden dabei die elektrischen Spannungsschwankungen (Elektroretinogramm) gemessen, die beim Sehen entstehen. Die Messung des Elektroretinogramms erfolgt mittels Hautelektroden an den Schläfen und am Ohr sowie Fadenelektroden, die an die Bindehaut des Auges angelegt werden. Diese Messelektroden setzen die Versuchsperson nicht unter Strom, es ist vielmehr umgekehrt: Die elektrischen Signale, die im Auge beim Sehen entstehen, werden von außen "abgehört". Für den Versuch müssen die Pupillen mit Augentropfen weitgestellt werden, wodurch ein Verschwommensehen auftritt. Deshalb ist nach der Untersuchung das Führen eines Kraftfahrzeugs oder eines Zweirades, sowie jegliche aktive Teilnahme am Straßenverkehr für den Rest des Tages nicht zulässig.

Die Teilnahme an diesem Versuch erfolgt freiwillig. Der Versuch dauert ca. 2 Stunden und kann jederzeit unterbrochen werden, falls von der Versuchsperson eine Pause gewünscht wird. Zudem kann der Versuch jederzeit und ohne Angabe von Gründen abgebrochen werden, ohne dass daraus ein gesundheitlicher oder sonstiger Nachteil für die Versuchsperson entstehen könnte. Eine einmal gegebene Einverständniserklärung verpflichtet die Versuchsperson nicht, an dem Versuch bis zum Ende teilzunehmen. Personenbezogene Daten werden nicht an Dritte weitergegeben. Eine Veröffentlichung der wissenschaftlichen Ergebnisse dieses Versuches erfolgt in anonymisierter Form, bei der die Identität der Versuchsperson nicht erkennbar wird.

Abbildung 6.14: **Informationsblatt:** Jeder Patient hat vor Beginn der Untersuchungen ein Informationsblatt zur Aufklärung über Sinn und Zweck der Studie erhalten.

Einverständniserklärung

Ich nehme freiwillig an einem wissenschaftlichen Versuch im elektrophysiologischen Labor der Universitäts-Augenklinik Würzburg (Leiter: Dr. rer. nat. Thomas Meigen) teil. Ich habe das Informationsblatt gelesen und, ggf. nach Rückfragen, verstanden, und erkläre mein Einverständnis als Versuchsperson zur Mitarbeit bei diesem Versuch. Ich bin einverstanden, dass die im Rahmen dieser Untersuchung erhobenen Daten weiterverarbeitet und die Ergebnisse in anonymisierter Form veröffentlicht werden. Mir wurde mitgeteilt, dass ich diese Untersuchung jederzeit und ohne Angabe von Gründen abbrechen kann.

Name (Druckschrift)

Geburtsdatum

Unterschrift

ggf. Unterschrift beider Eltern bzw. der gesetzlichen Vertreter

Würzburg, den

Abbildung 6.15: **Einverständniserklärung:** Durch das Unterschreiben der Einverständniserklärung erklärten sich die Patienten bereit an der Studie teilzunehmen. Sie konnten jedoch die Untersuchungen jederzeit ohne Angabe von Gründen unter- oder abbrechen.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich fachlich und persönlich bei der Erstellung dieser Bachelorthesis unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn PD Dr. rer. nat. Thomas Meigen, der mir diese Arbeit ermöglicht hat und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand. Ich danke ihm ganz herzlich für die sehr intensive Betreuung und seine große Geduld während der gesamten Arbeit.

Außerdem möchte ich mich beim gesamten Team des Elektrophysiologie-Labors für die tolle Atmosphäre und die schöne Zeit, die ich dort hatte, bedanken. Ein herzliches Dankeschön gilt Frau Anneliese Friedrich für ihre Hilfe bei den Vorbereitungen meiner Arbeit und ihre lebenswerte Art.

Ein großes Dankeschön möchte ich an meine Betreuerin Frau Prof. Dr. Ulrike Paffrath aussprechen für die tatkräftige Unterstützung und vor allem dafür, dass Sie so kurzfristig die Betreuung meiner Arbeit übernommen hat.

Mein außerordentlicher Dank geht an meine Familie und vor allem an meine Eltern. Ich danke ihnen von ganzem Herzen, dass sie mich nicht nur während meiner Arbeit sondern in der gesamten Studienzeit gefördert und in jeder Hinsicht unterstützt haben. Ganz besonders danke ich meinem Freund Waldemar für die unzähligen Motivationen und die immense Geduld, speziell in den schwierigen Phasen meiner Arbeit.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei allen Ärzten und Mitarbeitern der Augenklinik, die bei meiner Studie mitgewirkt haben. Nicht zuletzt danke ich allen Patienten und Probanden dafür, dass sie sich freiwillig für die zeitaufwendigen Messungen meiner Studie zur Verfügung gestellt haben.